

VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ

ÚSTAV CHEMIE A TECHNOLOGIE OCHRANY ŽIVOTNÍHO
PROSTŘEDÍ

FACULTY OF CHEMISTRY

INSTITUTE OF CHEMISTRY AND TECHNOLOGY OF ENVIRONMENTAL PROTECTION

HODNOCENÍ ZÁTĚŽE ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ PERFLUOROVANÝMI
SLOUČENINAMI

DIPLOMOVÁ PRÁCE

MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Bc. ALEŠ ŠIMA

BRNO 2011



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY



FAKULTA CHEMICKÁ

ÚSTAV CHEMIE A TECHNOLOGIE OCHRANY
ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ

FACULTY OF CHEMISTRY

INSTITUTE OF CHEMISTRY AND TECHNOLOGY OF
ENVIRONMENTAL PROTECTION

HODNOCENÍ ZÁTĚŽE ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ PERFLUOROVANÝMI SLOUČENINAMI

EVALUATION OF ENVIRONMENTAL LOAD BY PERFLUORINATED COMPOUNDS

DIPLOMOVÁ PRÁCE

MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Bc. ALEŠ ŠIMA

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

prof. RNDr. MILADA VÁVROVÁ, CSc.

BRNO 2011



Vysoké učení technické v Brně
Fakulta chemická
Purkyňova 464/118, 61200 Brno 12

Zadání diplomové práce

Číslo diplomové práce:	FCH-DIP0546/2010	Akademický rok: 2010/2011
Ústav:	Ústav chemie a technologie ochrany životního prostředí	
Student(ka):	Bc. Aleš Šima	
Studijní program:	Chemie a technologie ochrany životního prostředí (N2805)	
Studijní obor:	Chemie a technologie ochrany životního prostředí (2805T002)	
Vedoucí práce	prof. RNDr. Milada Vávrová, CSc.	
Konzultanti:		

Název diplomové práce:

Hodnocení zátěže životního prostředí perfluorovanými sloučeninami

Zadání diplomové práce:

1. Zpracování literární rešerše na téma perfluorované sloučeniny
2. Provedení výběru vhodného analytického postupu pro stanovení těchto analytů v pevných matricích
3. Optimalizace metody pomocí modelových vzorků
4. Optimalizované metody budou využity pro stanovení perfluorovaných sloučenin v reálných vzorcích
5. Zpracování získaných výsledků a jejich interpretace

Termín odevzdání diplomové práce: 13.5.2011

Diplomová práce se odevzdává ve třech exemplářích na sekretariát ústavu a v elektronické formě vedoucímu diplomové práce. Toto zadání je přílohou diplomové práce.

Bc. Aleš Šima
Student(ka)

prof. RNDr. Milada Vávrová, CSc.
Vedoucí práce

doc. Ing. Josef Čáslavský, CSc.
Ředitel ústavu

V Brně, dne 15.1.2011

prof. Ing. Jaromír Havlica, DrSc.
Děkan fakulty

ABSTRAKT

Nejdůležitějšími zástupci skupiny perfluorovaných sloučenin jsou perfluorooktansulfonát (PFOS), perfluorooktanová kyselina (PFOA) a perfluorooktansulfonamid (FOSA). Perfluorované sloučeniny mají výjimečné fyzikální a chemické vlastnosti, které je činí cennými při použití v různých odvětvích průmyslu. Vlastnosti, pro které jsou tak užitečné, jsou však zároveň důvodem, proč jsou tyto sloučeniny tak nebezpečné pro životní prostředí.

Cílem teoretické části diplomové práce bylo zpracování literární rešerše na téma: *Hodnocení zátěže životního prostředí perfluorovanými sloučeninami*. V experimentální části byla vypracována a optimalizována metoda, které byla použita pro identifikaci a kvantifikaci vybraných polutantů obsažených v reálných vzorcích půd.

ABSTRACT

The most important substances of the group of perfluorinated compounds are perfluorooctyl sulfonate (PFOS), perfluorooctanoic acid (PFOA) and perfluorooctane sulphonamide (FOSA). Perfluorinated compounds have special physical and chemical properties, which make them valuable for usage in different industrial branches. These properties, which make them so useful are also the reason, why they are so harmful for the environment.

The target of theoretical part of the diploma thesis was processing of literature searche on the topic: *Evaluation of environmental load by perfluorinated compounds*. In the experimental part was developed and optimized a method that was used for the identification and quantification of selected pollutants contained in real soil samples.

KLÍČOVÁ SLOVA

perfluorované sloučeniny, perfluorooktansulfonát, perfluorooktanová kyselina, perfluorooktansulfonamid, toxicita, životní prostředí, vysokoúčinná kapalinová chromatografie s hmotnostní detekcí (HPLC/MS)

KEYWORDS

perfluorinated compounds, perfluorooctyl sulfonate, perfluorooctanoic acid, perfluorooctane sulphonamide, toxicity, environment, high performance liquid chromatography with a mass spectrometer (HPLC/MS)

ŠIMA, A. Hodnocení zátěže životního prostředí perfluorovanými sloučeninami. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2011. 75 s. Vedoucí diplomové práce prof. RNDr. Milada Vávrová, CSc.

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci vypracoval samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citoval. Diplomová práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího diplomové práce a děkana FCH VUT.

.....
podpis studenta

Poděkování:

Rád bych tímto poděkoval vedoucí své diplomové práce prof. RNDr. Miladě Vávrové, CSc., za pomoc, připomínky a odborné vedení a Ing. Ludmile Mravcové, Ph.D. za účinnou pomoc při experimentální činnosti. Poděkování určitě zaslouží také ostatní pracovníci a doktorandi laboratoře separačních metod, kteří mi rovněž věnovali spoustu času a mnoho cenných rad. Dále bych chtěl poděkovat svým blízkým za podporu při tvorbě této diplomové práce.

OBSAH

1	ÚVOD	7
2	FYZIKÁLNĚ – CHEMICKÉ VLASTNOSTI	8
2.1	Charakteristika	8
2.2	Fyzikálně-chemické vlastnosti vybraných sloučenin	10
2.2.1	PFOA a její soli	11
3	VÝROBA	13
3.1	Elektrochemická fluorace	13
3.2	Telomerace	14
3.3	Porovnání hlavních výrobních procesů	15
3.4	Použití	15
3.4.1	Nátěrové hmoty	16
3.4.2	Domácí a průmyslové čisticí prostředky	16
3.4.3	Ochrana papíru a obalových materiálů	16
3.4.4	Ochrana koberců, textilií a kůže	17
3.4.5	Hasící pěny	17
3.4.6	Hydraulické tekutiny pro letecký průmysl	18
3.4.7	Pokovování	18
3.4.8	Polovodiče a fotolitografie	18
3.4.9	Fotografický průmysl	18
3.4.10	Ostatní použití	18
4	ZDROJE A VÝSKYT V ŽIVOTNÍM V PROSTŘEDÍ	19
4.1	Průnik perfluorovaných sloučenin do životního prostředí	19
4.2	Hladiny perfluorovaných sloučenin v životním prostředí	20
4.3	Výskyt perfluorovaných sloučenin u člověka	20
4.4	Výskyt PFAS v potravinách	21
4.5	Hladiny perfluorovaných sloučenin v živých organismech	23
5	OSUD PERFLUOROVANÝCH SLOUČENIN V PROSTŘEDÍ	24
5.1	Bioakumulace	25
5.2	Perzistence	26
5.3	Biodegradace	26
6	TOXIKOLOGIE PERFLUOROVANÝCH SLOUČENIN	27
6.1	Toxické účinky sledované ve vodním ekosystému	27
6.1.1	Sladkovodní organismy	27
6.1.2	Mořské organismy	28
6.2	Toxicita pro savce	28
6.2.1	Osud v těle savců	28
6.2.2	Akutní toxicita	29
6.2.3	Chronická toxicita	29
7	ANALYTICKÁ CHEMIE PERFLUOROVANÝCH SLOUČENIN	30
7.1	Všeobecné poznatky	30
7.1.1	Odběr, skladování a konzervace vzorků	30
7.1.2	Úprava vzorků, čištění	31
7.1.3	Analytická koncovka stanovení PFAS	32
7.1.3.1	Stanovení PFAS metodou LC/MS	33
7.2	Analýza půd, sedimentů a odpadního kalu	34
7.2.1	Vzorkování	34
7.2.2	Úprava vzorku	34
7.2.3	Metoda stanovení	35

7.3	Analýza vody.....	35
7.3.1	Vzorkování	35
7.3.2	Úprava vzorku	35
7.3.3	Metoda stanovení	36
7.4	Analýza vzduchu	37
7.4.1	Vzorkování	37
7.4.2	Úprava vzorku	37
7.4.3	Metoda stanovení	37
7.5	Biologický materiál	38
7.6	Potraviny	39
7.7	Spotřební zboží.....	39
8	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	41
8.1	Používané přístroje, zařízení a software.....	41
8.1.1	Zařízení pro přípravu a extrakci vzorků.....	41
8.1.2	Kapalinová chromatografie	41
8.1.3	Software pro zpracování a prezentaci dat	41
8.2	Chemikálie, spotřební materiál a standardy	41
8.2.1	Rozpouštědla	41
8.2.2	Chemikálie a jiné materiály.....	41
8.2.3	Použité SPE extrakční kolony	41
8.2.4	Technické plyny	41
8.2.5	Použité standardy	41
8.2.6	Studovaná matrice	42
8.3	Princip metody	42
8.3.1	Pracovní postupy	45
8.3.1.1	Sonikace	45
8.3.1.2	Přečištění extraktů	45
8.3.1.3	Identifikace a kvantifikace analytů	46
9	VÝSLEDKY A DISKUSE	48
9.1	Optimalizace chromatografických podmínek	48
9.2	Kalibrační křivka, mez detekce, mez stanovitelnosti	51
9.3	Optimalizace extrakčního postupu	53
9.4	Stanovení perfluorovaných sloučenin ve vzorcích půdy.....	57
10	ZÁVĚR.....	61
	SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ	62
	SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ	67
	PŘÍLOHY	69
	Příloha č.1.....	69
	Příloha č.2.....	72
	Příloha č.3.....	73

1 ÚVOD

Při sledování zátěže životního prostředí různými skupinami chemických látek je v posledních několika letech pozornost soustředována nejen na halogenované kontaminanty jako jsou polychlorované bifenyly (PCB) nebo organochlorové pesticidy (OCP), mezi které patří DDT a jeho metabolity, případně HCH a jeho γ -isomer lindan, ale také se zaměřuje na bromované retardátory hoření (BFR) na poměrně „novou“ skupinu organických polutantů, kterou jsou perfluorované sloučeniny.

V polovině devadesátých let 20. století byly potvrzeny nálezy jednoho ze zástupců perfluorovaných sloučenin ve tkáni člověka, a to kyseliny perfluorooktanové (PFOA). První zmínka o přítomnosti organických sloučenin fluoru v lidské krvi pochází již z roku 1968. Na podkladě posouzení jejich negativních vlastností se společnost začala o perfluorované sloučeniny zajímat podrobněji; modernější analytické metody jim umožnily identifikovat celou řadu látek této skupiny.

Perfluoroalkylované sloučeniny (PFAS) je společný název pro skupinu syntetických fluorovaných sloučenin, včetně jejich oligomerů a polymerů. Tato skupina zahrnuje několik stovek sloučenin, rozdělených podle struktury do 23 kategorií. Důležitými podskupinami jsou perfluorované organické surfaktanty a fluorované organické polymery. Kyselina perfluorooktanová (PFOA), perfluorooktansulfonamid (FOSA), perfluorooktansulfonát a jeho soli (PFOS) patří mezi nejsledovanější zástupce perfluorovaných sloučenin.

Vzhledem k tomu, že PFAS v prostředí degradují téměř výhradně na PFOA a PFOS, představují tyto dva analyty nejvýznamější sloučeniny z celé skupiny perfluorovaných sloučenin. Perfluorované substance pronikají do životního prostředí a následně do potravních řetězců zejména při degradaci příbuzných sloučenin, které se používají například ve fotografickém průmyslu, při výrobě polovodičů, na ochranu textilií, nábytku, koberců a rovněž jako aditiva do hasících pěn a hydraulických kapalin. Tato využití poukazují na unikátní vlastnosti perfluorovaných sloučenin, které mají schopnost modifikovat vlastnosti povrchů různorodých materiálů a poskytovat jim tak odolnost proti vodě, olejovitým látkám a špíně.

Nedávno realizované studie, které se týkaly výskytu PFOA a PFOS potvrdily, že tyto dvě nejvýznamější sloučeniny z celé skupiny PFAS jsou globálními kontaminanty biotické i abiotické složky prostředí, včetně lidské populace. Nálezy PFOA a PFOS v mateřském mléce potvrzují tu skutečnost, že se tyto kontaminanty značným způsobem dotýkají i člověka. Mateřské mléko se díky tomuto závažnému nálezu stalo vhodným indikátorem zátěže populace těmito škodlivinami. Přítomnost PFOS byla také zjištěna v organismech ryb, ptáků a savců. Z tohoto zjištění je jasné, že tato látka může pronikat i do potravních řetězců. Zvýšené hladiny PFOS byly pozorovány zejména v obydlených a průmyslových oblastech. Studie o nálezech perfluoroalkylovaných sloučenin pochází většinou ze Spojených států a Kanady, avšak hladiny detekované a dosud publikované v Evropě bývají na stejné výši. Majoritně detekovaným analytem je hlavně PFOS, jehož hladiny se pohybují v rozmezí jednotek až stovek ng/g matrice. Za výjimku lze považovat extrémně vysoké nálezy PFOS ve vzorku úhoře, které činily až 9030 ng/g matrice. Tyto nálezy byly zjištěny v průmyslové oblasti Belgie [4].

Skutečnost, že přítomnost PFOS byla zjištěna ve tkáních zvířat z arktických oblastí, je však vzhledem k vzdálenosti od antropogenních zdrojů alarmující.

2 FYZIKÁLNĚ – CHEMICKÉ VLASTNOSTI

2.1 Charakteristika

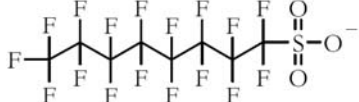
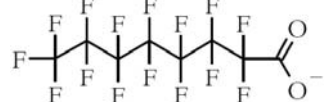

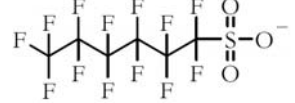
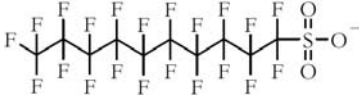


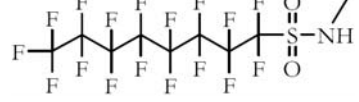
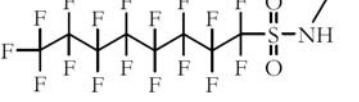
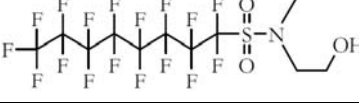
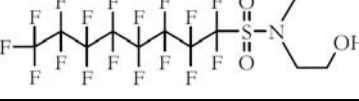
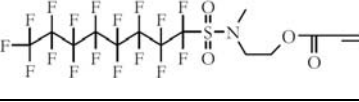
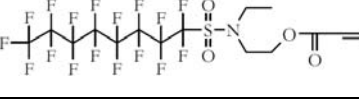
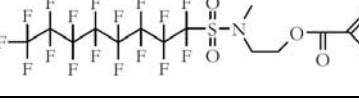
Jak již bylo zmíněno v úvodu, skupina PFAS zahrnuje několik stovek sloučenin, rozdělených podle struktury do 23 kategorií. Z těchto kategorií jsou nejdůležitějšími podskupinami perfluorované organické surfaktanty a fluorované organické polymery. V technických směsích kolísá délka alkylovaného perfluorovaného řetězce od 4 do 20 atomů uhlíku, většina dostupných dat se však týká sloučenin s osmi atomy uhlíku [3]. V tabulce č.1 jsou prezentovány jednotlivé kategorie perfluoroalkylovaných sloučenin.

Perfluoroalkylované sloučeniny jsou uměle vyrobené sloučeniny, které mají speciální fyzikálně-chemické vlastnosti, které je činí užitečnými pro použití v různých průmyslových a domácích aplikacích. Jedná se o látky poměrně málo reaktivní, hydrofobní a oleofobní, povrchově aktivní, se schopností bioakumulace. Mnoho sloučenin odolává také hydrolýze, fotolýze, biodegradaci a v důsledku toho vykazují velice dlouhý poločas rozpadu. Jsou chemicky a termicky velice stabilní. Tyto charakteristické vlastnosti vysvětlují jejich schopnost perzistence v životním prostředí [24]. Díky svému negativnímu účinku na lidské zdraví a životní prostředí se zařazují mezi perzistentní organické polutanty, tzv. POPs. Nejvýznamější sloučeniny jsou přehledně seřazeny dle způsobu výroby v následujících tabulkách.

Tabulka č. 1: Kategorie perfluoroalkylovaných sloučenin [1]

Kategorie	Typ sloučeniny	Počet
1	Perfluoroalkyl sulfonates	18
2	Perfluoroalkyl sulfonyl derivatives	10
3	Perfluoroalkyl sulfonamides	60
4	Perfluoroalkyl sulfonamide alcohol derivatives	12
5	Perfluoroalkyl sulfonamide phosphate derivatives	6
6	Perfluoroalkyl sulfonamide glycine derivatives	6
7	Perfluoroalkyl sulfonamide polyethoxylate derivatives	7
8	Perfluoroalkyl sulfonamide aminopropyl derivatives	28
9	Perfluoroalkyl sulfonamide chromium complex derivatives	6
10	Perfluorocarboxylic acids	29
11	Fluorosulfonamides	1
12	Fluoroesters	5
13	Fluorothioethers	9
14	Fluorocarboxylates	3
15	Fluorourethanes	2
16	Fluoroalcohols	14
17	Fluoroacrylates	84
18	Fluorophosphates	8
19	Fluoroalcohol derivatives	5
20	Perfluorosulfonamide acrylate polymers	13
21	Fluoroacrylate polymers	10
22	Perfluoroalkyl and -alkoxy silanes	6
23	Perfluorophosphonics	4

Tabulka č. 2: Přehled vybraných látek vyráběných elektrochemicky

Zkratka	Celý název	Z*	CAS	Struktura
PFOS	Perfluorooktansulfonát	1	2795-39-3	
PFOA	Perfluorooktanová kyselina	1,3	335-67-1	
PFBS	Perfluorobutanosulfonát	1	29420-49-3	
PFHxS	Perfluorohexanosulfonát	1	432-50-7	
PFDS	Perfluorodekansulfonát	-	67906-42-7	
POSF	Perfluorooktan-sulfonylfluorid	2	307-35-7	
FOSA	Perfluorooktan-sulfonamid	-	754-91-6	
N-MeFOSA	N-Methylperfluorooktan-sulfonamid	2	31506-32-8	
N-EtFOSA	N-Ethylperfluorooktan-sulfonamid	2	4151-50-2	
N-MeFOSE	N-Methylperfluorooktan-sulfonamidoethanol	2	24448-09-7	
N-EtFOSE	N-Ethylperfluorooktan-sulfonamidoethanol	2	1691-99-2	
N-MeFOSEA	N-Methylperfluorooktan-sulfonamidoethylakrylát	3,4	25268-77-3	
N-EtFOSEA	N-Ethylperfluorooktan-sulfonamidoethylakrylát	4	423-82-5	
N-EtFOSEMA	N-Ethylperfluorooktan-sulfonamidoethylmethakrylát	3,4	376-14-7	

Tabulka č. 3: Přehled vybraných látek vyráběných telomerací

Zkratka	Celý název	Z*	CAS	Struktura
6:2 FTOH	1H, 1H, 2H, 2H-Perfluorooktanol	2	647-42-7	
8:2 FTOH	1H, 1H, 2H, 2H-Perfluorodekanol	2	865-86-1	
10:2 FTOH	1H, 1H, 2H, 2H-Perfluorododekanol	-	678-39-7	
6:2 FTA	1H, 1H, 2H, 2H-Perfluorooktylakrylát	4	17527-29-6	
8:2 FTA	1H, 1H, 2H, 2H-Perfluorodekylakrylát	4	27905-45-9	
10:2 FTMA	1H, 1H, 2H, 2H-Perfluorooktylmethakrylát	4	2144-53-8	

Z*) Kritérium pro zařazení:

- 1 – nejpravděpodobnější degradační produkt
- 2 – důležitý meziprodukt při výrobě
- 3 – důležitý komerční produkt
- 4 – důležitý monomer pro výrobu polymerů
- data nedostupná

2.2 Fyzikálně-chemické vlastnosti vybraných sloučenin

Pro mnoho sloučenin z celé skupiny perfluorovaných látek je k dispozici velice málo fyzikálně-chemických dat. Výzkum je zaměřen především na sloučeniny, které jsou nejvíce komerčně využívány a představují tak největší riziko pro životní prostředí. Většina perfluoroalkylovaných sloučenin se degraduje výhradně na perfluorooktanovou kyselinu (PFOA) a perfluorooktansulfonát (PFOS). V tabulkách č. 4 a č. 5 jsou uvedeny dostupné fyzikálně-chemické vlastnosti těchto nejvýznamějších sloučenin. V tabulce č. 6 jsou dále uvedeny vlastnosti vybraných sloučenin, pro které je k dispozici o dost méně fyzikálně-chemických dat.

Tabulka č. 4: Fyzikálně-chemické vlastnosti PFOA [9]

PFOA	
Vlastnost	Hodnota
Molekulová hmotnost	414,07 g/mol
Rozpustnost ve vodě	340 mg/l
Bod tání	45 – 50 °C
Bod varu	189 – 192 °C na 736 mm Hg
pKa	2,5
pH (1 g/l)	2,6

Tabulka č. 5: Fyzikálně-chemické vlastnosti draselné soli PFOS [12]

PFOS (K ⁺)	
Vlastnost	Hodnota
Forma za normální teploty a tlaku	Bílý prášek
Molekulová hmotnost	538,23 g/mol
Tenze par	$3,31 \cdot 10^{-4}$ Pa
Rozpustnost ve vodě	519 mg/l (20 ± 0,5 °C) 618 mg/l (24 – 25 °C)
Bod tání	> 400 °C
Bod varu	-
Rozdělovací koeficient vzduch – voda	$< 2 \cdot 10^{-6}$

Tabulka č. 6: Fyzikálně-chemické vlastnosti vybraných sloučenin [1]

Sloučenina	Molekulová hmotnost (g/mol)	Bod tání (°C)	Bod varu (°C)	Rozpustnost ve vodě (mg/l)
PFH _x S	438,22	-	-	-
PFBS	338,21	-	-	510
N-MeFOSE	557,23	-	-	-
N-EtFOSE	571,26	55 – 60	-	151
N-MeFOSEA	611,28	-	-	-
N-EtFOSEA	625,30	27 – 42	150 na 1 mm Hg	890
N-EtFOSEMA	639,33	48 – 55	-	-
6:2 FTOH	364,11	-	88 – 95 na 28 mm Hg	120
8:2 FTOH	464,12	49 – 51	113 na 10 mm Hg	140
6:2 FTA	418,16	-	-	-
8:2 FTA	518,17	-	90 na 4 mm Hg	-
6:2 FTMA	432,18	-	-	-
8:2 FTMA	532,20	-	12 na 4 mm Hg	-

2.2.1 PFOA a její soli

Amonná sůl kyseliny perfluoroktanové (APFO) je pomocné polymerizační činidlo, často používané k výrobě mnoha fluoropolymerů a fluoroelastomerů. APFO je také známý jako například kyselina C-8. Volná kyselina, kyselina perfluorooktanová, bývá často zkráceně nazývána PFOA. Studie úbytku hmotnosti nejrozličnějších solí perfluorooktanové kyseliny

pomocí termografické analýzy objasňuje rozdíly v tepelném chování těchto solí. Například, vzorek amonné soli projevil ztrátu hmotnosti v rozmezí teplot 50 – 100 °C, zatímco sodná sůl projevila úbytek hmotnosti až po dosažení teplot kolem 200 – 250 °C. Vzorek amonné soli ztratil 20 % své hmotnosti při teplotě 169 °C; ostatní vzorky solí (Cs, K, Ag, Pb, Li) ztratily stejný úbytek hmotnosti až po dosažení teploty 237 °C a vyšší. Rozkladem různých solí perfluorooktanové kyseliny vzniká perflurohepten. Toto nastává při 320 °C pro sodnou sůl a při 250 – 290 °C pro sůl stříbrnou.

Dalo by se předpokládat, že přeměnou perfluorované kyseliny na sůl dojde ke snížení její těkavosti, avšak perfluorooktanoát amonný, nejběžněji užívaná sůl PFOA, začíná těkat již při docela nízkých teplotách. Byla také potvrzena rozpustnost PFOA ve vodě, avšak není zcela jasné, zdali se nejedná spíše o mikrodisperzi micel, než o skutečnou rozpustnost [9].

3 VÝROBA

Perfluorované sloučeniny se vyrábějí hlavně v USA, Japonsku a v Evropě. Do životního prostředí pronikly především výrobou a následným užitím nejrozličnějších produktů, obsahujících perfluorované sloučeniny. Zajímavostí je, že se tyto sloučeniny např. ve Švédsku nikdy nevyráběly [22].

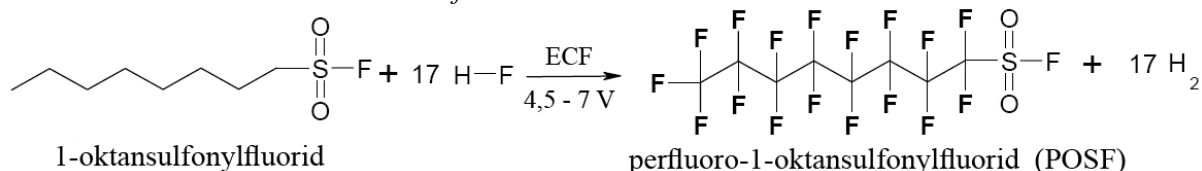
Na výrobu perfluorovaných sloučenin mohou být použity tři různé technologické postupy, a to elektrochemická fluorace, telomerace nebo oligomerace. K oligomeraci lze dodat, že se při použití této metody tvoří rozvětvené uhlíkové řetězce a méně izomerů. V průmyslové výrobě se však používají pouze dva hlavní způsoby výroby PFAS [11]. Proto se budeme podrobněji zabývat jen prvními dvěma výrobními postupy.

3.1 Elektrochemická fluorace

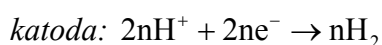
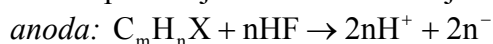
Elektrochemickou cestou (zkráceně ECF) vznikají větvené i nevětvené plně fluorované produkty, které obsahují sulfonylovou skupinu. Tuto metodu vynalezl v roce 1944 Simons a spol., a proto se lze v literatuře často setkat s názvem Simonsův proces nebo také Simons ECF. Společnost 3M tento patent ihned odkoupila.

Při elektrochemické fluoraci je výchozí organická sloučenina ponořena nebo rozpuštěna v bezvodé kyselině chlorovodíkové, do které jsou ponořeny niklové elektrody. Stejný proud procházející těmito elektrodami spustí proces, při kterém jsou všechny atomy vodíku organické sloučeniny nahrazeny atomy fluoru. Schéma reakce je zobrazeno na obrázku č. 1. Výsledný produkt obsahuje různé nečistoty v podobě kratších alkylových řetězců, neúplně fluorovaných sloučenin nebo větvených a cyklických struktur [1].

Obrázek č. 1: Příklad elektrochemické fluorace



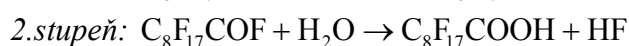
Reakce probíhající na elektrodách jsou následující:



POSF dále reaguje s methylaminem nebo ethylaminem za vzniku N-methylperfluorooktansulfonamidu (N-MeFOSA), resp. N-ethylperfluorooktansulfonamidu (N-EtFOSA). Tyto dvě sloučeniny tvoří následně s ethylenkarbonátem N-methylperfluorooktansulfonamidoethanol (N-MeFOSE), resp. N-ethylperfluorooktansulfonamidoethanol (N-EtFOSE) [12].

Sloučeniny N-MeFOSE a N-EtFOSE byly hlavními stavebními kameny společnosti 3M [5].

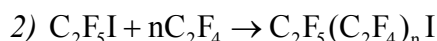
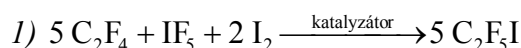
Elektrochemickou fluorací (ECF) lze vyrobit také PFOA, a to za použití např. oktanoylchloridu jako výchozí látky. Hydrolýzou perfluoroktanoylefluoridu lze z první reakce získat výsledný produkt. Reakce je dvoustupňová. Její průběh je naznačen následujícími rovnicemi:



3.2 Telomerace

Dalším významným způsobem výroby perfluorovaných sloučenin je telomerace. Tento postup bývá používán společnostmi jako například Atofina, DuPont, Clariant, Daikan a Asahi Glass. Telomerace je proces, ve kterém vzniká polymerní produkt z monomeru a iniciátoru. Iniciátor se získá řetězovou reakcí mezi radikálem a jinou sloučeninou, nazývanou telogen.

V první fázi výrobního procesu vznikne syntézou perfluoroalkyljodid. V závislosti na aplikaci je jodid substituován funkční skupinou. První fáze výrobního postupu perfluoroalkyljodidu zahrnuje dva kroky:

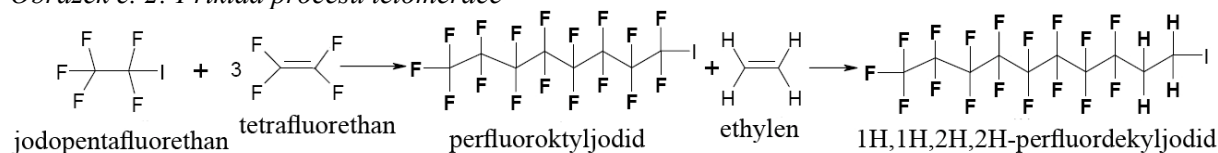


Druhý krok využívá radikálové iniciace buď pomocí tepla a UV záření, případně jiného radikálu. Tento výrobní postup byl v roce 1949 vyvinut Haszeldinem a upraven v šedesátých letech dvacátého století společností DuPont. Cena sloučenin vyrobených tímto postupem je velice vysoká, zejména díky vlastnostem výchozích materiálů. Jód (I_2) a fluorid jodičný (IF_5) jsou vysoce agresivní. Tetrafluorethylen je finančně nákladný a potenciálně výbušný.

V druhé fázi výroby musí být jodid substituován funkční skupinou, avšak přímo z $\text{C}_n\text{F}_m\text{I}$ mohou být vyrobeny pouze dva důležité komerční produkty. Těmi jsou perfluorokarboxylová kyselina, využívající dýmavou kyselinu sírovou (oleum) jako reaktant, a perfluoroalkan-sulfonylchlorid, využívající SO_2/Zn a Cl_2 . Produkty vzniklé nepřímou cestou mohou být vyrobeny ethylací a následnou substitucí jodidu funkční skupinou, dle vlastní volby. Vznikne tak $\text{R}_F\text{C}_2\text{H}_4\text{X}$, kde R_F reprezentuje perfluoroalkylovanou skupinu. Sloučeniny vzniklé touto nepřímou cestou jsou důležitými meziprodukty pro výrobu perfluorovaných surfaktantů, spolu s 8:2 FTOH (1H,1H,2H,2H-perfluorodekanol), který je primárním stavebním kamenem celé výroby [1].

V průběhu telomerace může být radikálovou reakcí vytvořen také např. perfluorooktyljodid. Jodopentafluorethan reaguje s n jednotkami tetrafluorethylenu (TFE) a posléze s ethylenem. Příklad reakce se třemi jednotkami TFE je zobrazen na obrázku č. 2.

Obrázek č. 2: Příklad procesu telomerace



Výsledkem tohoto výrobního procesu jsou nevětvené řetězce, obsahující jen velice málo nečistot, avšak produkty nejsou plně fluorované. Charakteristickým znakem tohoto procesu je ethylenová skupina [12].

Všechny nežádoucí produkty jsou odstraněny destilací. Tento technologický postup je velmi jednoduchý. Důvodem je radikálový mechanismus, díky kterému lze předpokládat tvorbu pouze lineárních perfluoro-n-alkylovaných sloučenin.

3.3 Porovnání hlavních výrobních procesů

Hlavním a nejdůležitějším rozdílem mezi oběma výrobními postupy je podoba finálního produktu. Elektrochemickou fluorací lze vyrobit všechny typy perfluorovaných sloučenin. Výroba významně závisí na výchozím organickém materiálu a na jeho čistotě. Společnost 3M používala ECF způsob k výrobě PFOA a PFOS. Provoz výrobní linky, zaměřený na výrobu těchto sloučenin, je však v současné době ukončen [12]. Téměř všechny produkty vyrobené telomerací mají společný meziprodukt $R_F C_2 H_4 X$, kde X je kterákoliv funkční skupina a R_F perfluorovaný alkylový řetězec. Při porovnání elektrochemické fluorace a telomerace je také zřejmý rozdíl v čistotě výsledných sloučenin. Produkty telomerace jsou mnohem čistší, než produkty vytvořené elektrochemickou cestou. Telomeračním procesem vzniká méně vedlejších produktů a díky tomu je mnohem jednodušší jejich oddělení od požadovaných produktů. Naproti tomu produkty vyrobené elektrochemickou cestou obsahují až 30 % nežádoucích větvených řetězců [1]. V neposlední řadě se výsledné produkty obou procesů liší cenou. Elektrochemickou fluoraci (ECF) lze považovat za relativně levný postup, zatímco telomerací jsou vyráběny jen vyjímečně drahé produkty [11].

3.4 Použití

Co spojuje pytlík na pražení popcornu, teflonovou pánev, goretexovou větrovku a lidský plod vyvíjející se v těle matky? Jsou to syntetické chemikálie obsahující fluor. Používaly se v nejrůznějších aplikacích a v menší míře se používají i v současné době. Příkladem může být výroba polytetrafluorethylenu (PTFE), který je znám spíše pod názvy komerčních produktů jako Teflon nebo GoreTex. Důvodem jsou výjimečné vlastnosti perfluorovaných sloučenin. Tyto výjimečné vlastnosti fluorovaných chemikálií jsou bohužel zároveň příčinou jejich nebezpečnosti pro životní prostředí i zdraví lidí [13]. Chemické struktury perfluorovaných sloučenin jsou stejně různorodé, stejně jako jejich aplikace [15].

Jak již bylo zmíněno v úvodu, společnost 3M v roce 2000 dobrovolně zastavila výrobu perfluorovaných sloučenin, což vedlo k výraznému snížení aplikace těchto sloučenin. Ovšem nejednalo se pouze o společnost 3M. Rovněž bylo nutné provést náležitá opatření uvnitř významných průmyslových sektorů, aby došlo ke snížení závislosti společnosti na perfluorovaných sloučeninách [23].

Dříve byly perfluorované sloučeniny používány v těchto oblastech:

- výroba nátěrů a aditiv do nátěrových hmot
- výroba čistících prostředků pro průmyslové i domácí užití
- ochrana papíru a obalových materiálů
- ošetření povrchu koberců, textilií a kůže
- výroba pesticidů a insekticidů

V současné jsou používány:

- jako aditiva do hasících pěn a hydraulických tekutin
- při výrobě pokovovaných předmětů
- při výrobě polovodičů
- ve fotografickém průmyslu
- ve fotolitografii.

V tabulce č. 7 je uvedena přibližná spotřeba látek příbuzných PFOS pro výše uvedené aplikace v Evropské unii.

Tabulka č. 7: Odhad současné spotřeby látek příbuzných PFOS v EU [16]

Sektor průmyslu	Množství (kg/rok)
Pokovování předmětů	2500
Fotografický průmysl	1500
Hydraulické tekutiny	730
Fotolitografie a polovodiče	500

Z těchto dat je zřejmé, že se v EU spotřebuje nejvíce perfluorovaných chemikálií na pokovování předmětů. To však nemusí platit pro jednotlivé země EU, protože každá země má odlišný majoritní sektor průmyslu. V dalších bodech jsou detailně popsány nejen současné, ale i minulé aplikace perfluorovaných sloučenin.

3.4.1 Nátěrové hmoty

Společnost 3M vyráběla nátěrové hmoty a aditiva do nátěrových hmot na bázi fluorovaných polymerů, které obsahovaly zbytky fluorovaných uhlovodíků v množství 4 % a méně. Aditiva byla používána neředěná nebo ředěná butylacetátem, případně vodou. Povrchům, na které byla tato aditiva aplikována, zajišťovala odpudivost proti vodě a špíně. Další typy nátěrových hmot byly využívány například na ochranu dlaždic, mramoru nebo betonu. Není však jasné, které produkty skutečně obsahovaly látky na bázi PFOS.

Britská federace nátěrových látek (BCF) uvedla, že použití a výroba látek příbuzných PFOS jako aditiv je nyní velmi omezená [23].

3.4.2 Domácí a průmyslové čisticí prostředky

Společnost 3M prodávala v minulosti různé druhy čisticích prostředků založených na bázi PFOS. Deriváty PFOS byly přidávány jako povrchově aktivní látky do řady čisticích produktů, např. leštících přípravků na podlahu, zásaditých čisticích prostředků, přípravků na čištění protéz a šampónů. Velké množství alkalických čistidel byla používána také ve formě spreje.

Co se týče použití perfluorovaných sloučenin k výrobě těchto prostředků v Evropské Unii, ve Velké Británii se již k výrobě čisticích prostředků chemikálie na bázi PFOS nepoužívají, zatímco ve Švédsku jsou perfluorované sloučeniny při výrobě stále využívány [17].

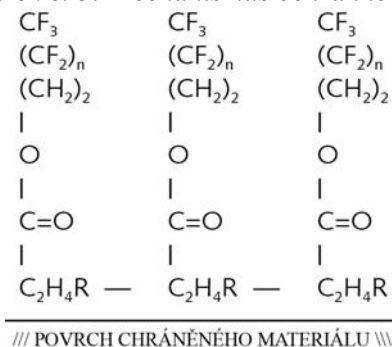
3.4.3 Ochrana papíru a obalových materiálů

V obalovém a papírenském průmyslu byly používány deriváty PFOS, protože zajišťovaly odolnost těchto materiálů proti tuku, oleji a vodě. Podle společnosti 3M byly perfluorované sloučeniny aplikovány při ošetření jak potravinářských obalů, tj. talířů, krabic na potraviny, tašek a obalů, tak také nepotravinářských materiálů jako kartonů, krabic a papírů na výrobu masek. Dnes již nejsou perfluorované sloučeniny pro tyto účely používány. V současnosti jsou pro tuto oblast aplikovány fluorované telomery, a to zejména k ošetření povrchů obalů na potraviny, jako jsou sáčky na hranolky, krabice na pizzu a mnoho dalších [12].

3.4.4 Ochrana koberců, textilií a kůže

Fluorované surfaktanty byly používány na vytvoření vrstvy, která sloužila například na ochranu textilií, oděvů, nábytku, čalounění, koberců a výrobků z kůže. Tato ochranná vrstva měla zajistit odolnost materiálu proti špíně, olejovitým látkám a vodě. Princip působení je založen na perfluorouhlíkovém řetězci, který se orientuje směrem ven z povrchu a snižuje tak jeho povrchové napětí [1]. Mechanismus ochrany povrchu pomocí fluorovaných polymerů je zobrazen na obrázku č. 3.

Obrázek č. 3: Mechanismus ochranné bariéry



3.4.5 Hasící pěny

Při hašení většiny požárů je voda stále velmi účinnou látkou. Avšak pokud hoří hořlavé tekutiny (třída B), má voda tendenci, a to díky své hustotě, klesnout pod hořící tekutinu. Proto má při hašení takových požárů jen malý účinek. Za tímto účelem byly pro hašení hořlavých tekutin vyvinuty speciální hasící pěny, které jsou velmi důležité a užitečné pro boj s těmito typy požárů. Hasící pěny vznikají při hašení z pěnového koncentrátu a z vody, která je získávána z ovzduší. Vzniklá pěna tvoří povlak o nízké hustotě. Tento povlak má schopnost uhasit požár, vzniklý hořením hořlavých tekutin.

Hasící pěny mohou být rozděleny podle obsahu fluoru do dvou kategorií:

- pěny obsahující fluor (některé obsahují látky příbuzné PFOS)
- pěny neobsahující fluor

Podle způsobu použití můžeme pěnové hasící přístroje rozdělit na:

1. přenosné hasící přístroje
 - práškové hasící přístroje
 - hasící přístroje plněné CO₂
 - pěnové hasící přístroje
2. nepřenosné protipožární systémy
 - syntetická pěnidla
 - proteinová pěnidla
 - fluorproteinová pěnidla

Lze konstatovat, že po dobrovolném ukončení produkce perfluorovaných látek firmou 3M výrazně pokleslo využití PFOS k výrobě hasicích pěn [17]. V současné době je vývoj zaměřen na hasící činidla, které jsou biologicky odbouratelné a neobsahují glykolethery nebo fluorované surfaktanty [11].

3.4.6 Hydraulické tekutiny pro letecký průmysl

V letectví byly hydraulické kapaliny zpočátku používány ke zvýšení brzdné účinnosti. S rostoucím vývojem letectví bylo však rozsáhlejší využití hydraulických kapalin nevyhnutelné. V současné době jsou do hydraulických tekutin přidávány anionické fluorované surfaktanty. Zabraňují poškození a korozi mechanických částí hydraulického systému, který je používán v leteckém průmyslu [17].

3.4.7 Pokovování

Při pokrývání kovů ochrannou vrstvou nalezly látky příbuzné PFOS uplatnění hlavně při chromování, anodickém pokovování a kyselém moření kovů. Perfluorované sloučeniny snižují povrchové napětí pokovovacího roztoku, takže šestimocný chrom (známý karcinogen) je v roztoku udržován a neuniká tak do ovzduší. Únik chromu byl před aplikací látek příbuzných PFOS kontrolován extrakcí [23].

3.4.8 Polovodiče a fotolitografie

Výroba polovodičů je rozdělena do čtyř hlavních stupňů celého procesu:

- implantace
- usazení
- naleptání
- fotolitografie

Celý proces výroby polovodičů zahrnuje 500 kroků, avšak nejdůležitějším krokem k úspěšnému provedení nejen ostatních stupňů, ale i celého procesu, je právě fotolitografie. Fotolitografie na povrchu křemíkové desky umožňuje tvarování vrstev a je spojena zejména s miniaturizací polovodičů. PFOS a jemu příbuzné látky se používají jako pomocná činidla pro zvýšení účinnosti procesu fotolitografie a dále jsou ve 3 % přítomny v antireflexní vrstvě, kterou je potažen fotorezist. Ten se také používá při výrobě polovodičů [23].

3.4.9 Fotografický průmysl

Do směsí aplikovaných na fotografický film, papír a tiskařské desky jsou PFOS a jemu příbuzné látky používány pro následující účely:

- látky odpuzující nečistoty
- látky ovlivňující adhezi
- jako surfaktanty
- látky mající vliv na elektrostatický náboj
- látky mající vliv na tření

Unikátní kombinací povrchově aktivních vlastností se vyznačují činidla na bázi PFOS. Pro správnou funkci na povrchu fotografických médií stačí pouze malé množství perfluorovaných chemikálií, což je významné pro ostrost snímků [12].

3.4.10 Ostatní použití

Perfluorované sloučeniny se v současnosti i v minulosti používaly jako pomocné látky v pesticidních přípravcích, hornictví, medicíně, adhezivech, antireflexních materiálech a retardátorech hoření. Toto použití PFOS však tvoří pouze minoritní část ze všech známých aplikací perfluorovaných chemikálií [17].

4 ZDROJE A VÝSKYT V ŽIVOTNÍM V PROSTŘEDÍ

4.1 Průnik perfluorovaných sloučenin do životního prostředí

Perfluorované sloučeniny jsou většinou emitovány do prostředí přímo v místech jejich výroby, dále při běžném používání nejrůznějších výrobků, obsahujících tyto chemikálie v průmyslu, domácnostech a nakonec se uvolňují ze skládek odpadů. V odpadních vodách a ve vodě, prosakující ze skládek, byly detekovány zvýšené koncentrace PFOS. Tyto dva významné zdroje znečištění poukazují na způsob, jakým PFOS a jemu příbuzné látky přecházejí do životního prostředí. Většina perfluorovaných sloučenin přítomných v životním prostředí je důsledkem především lidské činnosti [18].

Hasičské výcvikové prostory mohou být velice významným zdrojem emisí PFOS, vzhledem k prokázané přítomnosti perfluorovaných sloučenin v hasících pěnach. Vysoké hladiny PFOS byly zjištěny v přilehlých mokřinách a v podzemní vodě u cvičebního areálu ve Švédsku [17] a také v blízkosti hasičského výcvikového prostoru v USA [14]. Zvýšené koncentrace PFOS a příbuzných sloučenin byly pozorovány v prostoru čistíren odpadních vod a skládek. Jakmile dojde k průniku PFOS a jemu příbuzných sloučenin do životního prostředí, adsorbují se na sediment a na organickou matici. Mohou se však také bioakumulovat v živých organismech [19]. Po aplikaci odpadního kalu je rovněž značné množství PFOS deponováno v zemědělské půdě.

Perfluorooktansulfonát a jeho soli mohou být díky svým povrchově aktivním vlastnostem navázány na prachové částice a přenášeny vzduchem na velmi dlouhé vzdálenosti. PFOS není sám o sobě příliš těkavý, avšak některé soli, jako například Me-FOSE, Et-FOSE, Me-FOSA, Et-FOSA a PFOSA, jsou těkavější povahy. Tyto sloučeniny mohou v atmosféře přetrvávat ve stavu plynném, případně kondenzovat na přítomné částice a být tak unášeny na dlouhé vzdálenosti. Prostřednictvím mokré depozice a vodních srážek mohou být takto deponovány na zemský povrch [18]. Bylo prokázáno, že fluorované telomery mohou být štěpeny v trávicím systému na PFOA a příbuzné sloučeniny. Tato sloučenina, která v přírodě plně nedegraduje, byla detekována v ekosystémech a tkáních zvířat po celém světě. Perzistence PFOA v prostředí je extrémně vysoká.

Další výzkumy ukazují, že tato chemická sloučenina spolu s PFOS stále více kontaminuje divoce žijící zvířata na celé planetě [20]. Proto je PFOS detekován například v tělech ledních medvědů v Arktidě. Zdroje perfluorovaných sloučenin, osud, transport a jejich fyzikálně-chemické vlastnosti nejsou prozatím s jistotou pochopeny a dostatečně popsány.

Vědci se domnívají, že hlavní příčinou výskytu perfluorovaných sloučenin v Arktických oblastech je vypouštění perfluorovaných sloučenin do vodního ekosystému a následný transport skrze řeky, moře a oceány [21].

Obrázek č. 4: Lední medvědi PFOS k ničemu nepotřebují, přesto se hromadí v jejich tělech



zdroj: RESPEKT.CZ

4.2 Hladiny perfluorovaných sloučenin v životním prostředí

Perfluorooktansulfonát může vznikat degradací příbuzných perfluorovaných sloučenin, což je velkou překážkou při odhadu průniku PFOS do životního prostředí. Degradací reakce a jejich rozsah není však doposud plně objasněn. Například vyšší koncentrace PFOS prokázané v efluentu, v porovnání s vodou přicházející do čistírny odpadních vod, poukazují na možnou přeměnu perfluorovaných látek přítomných ve vodním prostředí na PFOS. Relativně vysoké nálezy PFOS dokumentují také screeningové studie prováděné ve švédských mokřadech (0,2 – 2,2 $\mu\text{g/l}$). V okolí čistíren odpadních vod a skládek odpadů byly rovněž prokázány zvýšené hladiny. Odpadní vody z čistíren obsahovaly PFOS na hladinách až do 0,02 $\mu\text{g/l}$. Ve vodě prosakující ze skládek byly zjištěny koncentrace v rozmezí 0,038 a 0,152 $\mu\text{g/l}$ [17].

Hladiny PFOS byly sledovány v různých složkách prostředí, zejména v USA, Nizozemsku, Švédsku a Japonsku. Výzkum probíhal také v otevřených vodách oceánů a bylo zjištěno, že koncentrace PFOS ve vodách Tichého a Atlantského oceánu jsou přibližně stejné. Hodnoty se pohybují v rozmezí 15 – 56 pg/l [8].

V Kanadě byla vypracována studie se zaměřením na sledování zátěže ovzduší perfluorovanými sloučeninami. Tato studie potvrdila v ovzduší přítomnost šesti polyfluorovaných sulfonamidů a alkoholů (N-MeFOSE, N-EtFOSE, N-EtFOSA, 6:2 FTOH a 10:2 FTOH), a to v koncentracích 14 – 393 pg/m^3 (sulfonamidy) a 7 – 196 pg/m^3 (alkoholy). V oblastech měst byly pozorovány relativně vyšší nálezy než na venkově. V roce 2001 byly prokázány vysoké průměrné koncentrace N-MeFOSE (359 pg/m^3), a to zejména v oblasti amerického města Griffin. Používání perfluorovaných chemikálií při průmyslové úpravě povrchu koberců v této lokalitě bylo pravděpodobně zdrojem úniku PFAS do životního prostředí [16].

Ústav chemie a analýzy potravin, VŠCHT Praha, realizoval v letech 2005 – 2009 jako první v České republice monitorizační studie s cílem získat údaje o míře zatížení životního prostředí ČR a především vodního ekosystému vybranou skupinou perfluorovaných sloučenin. Detaily studií lze nalézt v příloze č.1.

4.3 Výskyt perfluorovaných sloučenin u člověka

První zmínka o přítomnosti organických sloučenin fluoru v lidské krvi pochází již z roku 1968. Tento fakt přispěl také k tomu, že se studiem výskytu perfluorovaných látek u člověka začali zabývat vědci z celého světa.

Z řady výzkumů vyplývá, že nejvíce zastoupenou látkou v lidské krvi, a to z celé skupiny perfluorovaných sloučenin, jsou PFOS a PFOA.

Koncentrace PFOS byla zjištěna u 90 – 100 % všech zjištěných vzorků. Výjimkou je Indie, kde byl PFOS nalezen jen u 50 – 55 % zkoumaných osob. Koncentrace ostatních perfluorovaných látek byla přibližně 5 – 10 krát nižší než byla koncentrace prokázaná u PFOS a PFOA [7]. U dělníků společnosti 3M, kteří pracovali v závodu na výrobu PFAS v USA, byly zaznamenány nejvyšší hladiny perfluorovaných látek. V krevním séru odebraném od 263 pracovníků se při posledním hodnocení v roce 2000 pohybovaly hladiny PFOS mezi 0,06 a 10,06 ng/ml a hladiny PFOA se pohybovaly v rozmezí 0,04 – 12,70 ng/ml. Poloviční koncentrace byly zjištěny v krevním séru 255 pracovníků obdobného závodu v Belgii. Japonští vědci prokázali, že se koncentrace PFOS a PFOA ve vzorcích séra odebraných od mužů, značně lišily od vzorků odebraných od žen. Koncentrace PFOS a PFOA byla prokazatelně vyšší u mužské populace [25]. Dosud však nebyla s jistotou prokázána souvislost mezi věkem, pohlavím a nalezenými hladinami PFOS v lidské krvi.

Dalším závažným zjištěním v posledních letech jsou hladiny perfluorovaných sloučenin stanovené v mateřském mléce. Průměrná koncentrace PFOS v odebraných vzorcích mléka byla ve Švédsku 0,201 ng/ml, zatímco koncentrace PFAS v mateřském mléce nebyla nijak významná. V obdobné studii, prováděné ve Spojených státech, byla průměrná koncentrace 131 pg/ml pro PFOS a 43,8 pg/ml pro PFOA. Ve vzorcích mateřského mléka, které bylo analyzováno v Číně, se koncentrace PFOS pohybovala v rozmezí 45 – 360 ng/l. Souvislost mezi akumulací PFOS, věkem a pohlavím neexistuje, což může být způsobeno tím, že perfluorované sloučeniny mají větší tendenci vázat se spíše na lipoproteiny, než na neutrální lipidy, jako je tomu například u PCB [26].

V tabulce č. 8 jsou shrnuty výsledky různých studií o výskytu vybraných perfluorovaných sloučenin u člověka.

4.4 Výskyt PFAS v potravinách

Za účelem získání prvních dat o přítomnosti PFAS v potravinách byla provedena speciální dietární studie, jejímž hlavním cílem bylo najít potenciální zdroje expozice pro člověka. Do této studie byly zahrnuty základní potraviny zakoupené v šesti městech USA. Tři z těchto měst byly vybrány, protože se v nich vyrábějí nebo komerčně využívají perfluorované sloučeniny. Ostatní tři města byla pouze kontrolní [12].

Hladiny perfluorovaných sloučenin na úrovni vyšší než kvantifikační limit, byly zjištěny pouze u 12 ze všech testovaných vzorků. Osm z nich pocházelo z měst, u kterých byla předpokládána zátěž PFAS vyšší. V rámci celého souboru vzorků se nálezy pohybovaly v rozmezí od nekvantifikovatelného množství do 0,852 ng/g pro PFOS a od hladin nižších hodnot než je mez stanovitelnosti až do 2,35 ng/g pro PFOA. V žádném ze vzorků nebyl dokonce PFOSA kvantifikován. Výsledky této studie shrnuje tabulka č. 9. Z tabulky je zřejmé, že v tomto případě bylo nejvíce kontaminováno hovězí maso.

Tabulka č. 8: Přehled dostupných údajů o výskytu vybraných PFAS u člověka [7, 8, 27]

Druh populace	Tkáň (počet vz.)	Původ vzorku (odběr)	Hladiny PFOS (ng/ml)	Hladiny PFOA (ng/ml)	Hladiny PFOSA (ng/ml)
Muži	Krev	Japonsko (2002)	2,4 – 1,4	-	-
Muži	Sérum (3)		19 – 41	-	-
Ženy	Krev (2)		9,1 – 11	-	-
Ženy	Sérum (313)	USA (2001)	6 – 226	< 2,1 – 52,3	-
Muži	Sérum (332)		< 4,3 – 1656	< 1,9 – 29	-
Ženy	Sérum (11)	Indie (2000)	< 1 – 3	< 3	< 3
Muži	Sérum (34)		< 1 – 3,1	< 3 – 3,5	< 3
Ženy	Sérum (25)	Korea (2003)	3,0 – 61,3	< 15 – 256	< 0,1 – 2,1
Muži	Sérum (25)		6,6 – 92	< 15 – 71,4	0,4 – 7,2
Ženy	Sérum (25)	Kolumbie (2003)	4,6 – 13	3,7 – 9,2	< 0,4 – 3,8
Muži	Sérum (31)		6,2 – 14	3,9 – 12,2	0,4 – 5,6
Ženy	Sérum (17)	Brazilie (2003)	4,3 – 35	< 20	< 0,4 – 1
Muži	Sérum (10)		6,8 – 24	< 20	< 0,4 – 2,3
Ženy	Sérum (8)	Itálie (2001)	< 1 – 8	< 3	< 1,3 – 1,7
Muži	Sérum (42)		< 1 – 10,3	< 3	< 1,3 – 2,3
Ženy	Sérum (15)	Polsko (2003)	16 – 60	9,7 – 34	0,4 – 7,7
Muži	Sérum (10)		21 – 116	11 – 40	< 0,4 – 4,4
Ženy	Sérum (4)	Belgie (2000)	4,9 – 19	< 1 – 7,6	< 3
Muži	Sérum (16)		4,5 – 27	1,1 – 13	< 3

Tabulka č. 9: Hladiny vybraných PFAS v ng/g v potravinách odebraných v letech 2000 – 2001

Potravina	Počet vzorků	Hladiny PFOS	Hladiny PFOA	Hladiny PFOSA
Kuře	36	< 0,5	< 0,5	< 0,5
Vepřové maso	36	< 0,5	< 0,5	< 0,5
Hot Dog	46	< 0,5	< 0,5	< 0,5
Ryby	44	< 0,5	< 0,5	< 0,5
Zelené fazolky	34	< 0,5	< 0,5 – 0,543	< 0,5
Mléko	36	< 0,5 – 0,852	< 0,5	< 0,5
Jablka	36	< 0,5	< 0,5 – 2,35	< 0,5
Chléb	36	< 0,5	< 0,5 – 0,524	< 0,5
Hovězí maso	36	< 0,5 – 0,587	< 0,5 – 1,09	< 0,5
Slepičí vejce	40	< 0,5	< 0,5	< 0,5

Další studie, která se týkala rybářů v oblasti Baltského moře, prokázala vysoké hladiny PFAS v krvi rybářů, kteří měli ve svém jídelníčku hlavně ryby z Baltského moře. Ve srovnání s normální populací byly tyto nalezené hladiny markantní. Dalším zdrojem kontaminace PFAS u lidí může být také pitná voda. Informace, týkající se hladin perfluorovaných sloučenin, jsou však zatím velmi omezené. Dá se ovšem předpokládat, že právě potraviny jsou hlavním důvodem výskytu PFAS u lidí [28].

4.5 Hladiny perfluorovaných sloučenin v živých organismech

V mnoha vzorcích bioty, analyzované po celém světě, byly prokazovány zvýšené hladiny PFOS a jemu příbuzných fluorovaných sloučenin. Nejvyšší hladiny byly detekovány u predátorů na vrcholu potravních řetězců obsahujících ryby [17].

Nejvyšší obsah perfluorovaných sloučenin se střední hodnotou 3100 ng/g byl zjištěn u sedmi zvířat. Maximální hodnota, která přesáhla 4000 ng/g, byla kvantifikována u polárních medvědů. U polární lišky se zjištěné hladiny PFOS pohybovaly v rozmezí 6,1 – 1400 ng/g. V játrech tuleňů ve Finsku byly rovněž prokazovány vysoké koncentrace PFOS, které ležely v rozmezí 30 – 1100 ng/g. Ve vzorcích plazmatu orla bělohlavého byly indikovány vysoké koncentrace PFOS, a to až 2570 ng/g. V játrech těchto zvířat bylo nalezeno mnohem vyšší množství PFOS, než jakékoliv organické sloučeniny detekované kdekoliv jinde na světě. Také přítomnost perfluorooktansulfonamidu (PFOSA) byla prokazována u většiny vzorků. U savců bylo množství PFOSA nižší než množství PFOS, zatímco u ryb tomu bylo naopak. Tato skutečnost souvisí s tím, že savci disponují metabolickým aparátem, díky kterému je PFOSA metabolizován na PFOS [10].

V roce 2002 zveřejnili Kannan a Giesy výsledky analýz, získané vyšetřením vzorků mořských savců, ryb, hadů, ptáků a obojživelníků z celé planety, včetně oblasti Severního a Jižního pólu. Vzorky byly odebrány v 90. letech 20. století. Až 1700 vzorků jater, svaloviny, vaječných žloutků a krevní plazmy bylo podrobeno analýze. PFOS byl v případě vyšetřených tkání mořských savců zjištěn u 77 % vzorků, u ptáků u 60 % vzorků, v rybách u 38 % vzorků a u norka a vydry byla přítomnost PFOS potvrzena dokonce ve 100 % vzorků. Tato skutečnost je alarmující, jelikož PFOS byl indikován ve většině vzorků. Nálezy byly potvrzeny i ve vzdálených mořských oblastech, a to v množství větším než 1 ng/g. V porovnání se vzorky z polárních oblastí, byly hladiny PFOS u vzorků z průmyslových oblastí ještě daleko vyšší. Dle mého názoru jsou tyto nálezy velice závažné! Je proto nutné zabývat se těmito perfluorovanými sloučeninami i v budoucnosti a snažit se hlavně o jejich eliminaci v životním prostředí [29].

Jedno přísloví praví: „Zachovej přírodu a příroda zachová Tebe“.

V příloze č. 2 (tabulka č. 21) je uveden přehled dat ze studií zaměřených na sledování obsahu PFOS v živočišných vzorcích.

5 OSUD PERFLUOROVANÝCH SLOUČENIN V PROSTŘEDÍ

Pokud chceme eliminovat perfluorované sloučeniny ze životního prostředí, je důležité nejprve pochopit chování těchto substancí v prostředí. Způsob, jakým se organické mikropolutanty chovají ve vodním prostředí, je dán vlastnostmi příslušné sloučeniny (rozpuštnost, tĕkavost, hydrofobicita) a environmentálními charakteristikami daného vodního prostředí (přítomnost sedimentu, obsah organických látek ve vodě atd.). Tyto vlastnosti společně určují, v jakém rozsahu by se případně mohla sloučenina ve vodních organismech akumulovat. Rozpuštnost sloučeniny ve vodě je proto vhodným ukazatelem, podle kterého lze určit, která sloučenina a jakým způsobem bude přenášena ve vodním ekosystému. Obecně lze říci, že málo rozpuštné sloučeniny mají vyšší afinitu k organické matici kalových částic ve vodním systému. Rozpuštnost a tenze par společně určují míru vytĕkání dané látky z vodního prostředí [1].

Případ, kdy PFOS a PFOA nejsou sorbovány na atmosférické částice, což má za následek malou pravděpodobnost transportu těchto sloučenin na dlouhé vzdálenosti. K tomu přispívá i kombinace zvýšené rozpuštnosti a nízké tenze par PFOS a PFOA. Naproti tomu perfluorované sloučeniny, které mají nižší rozpuštnost ve vodě a středně vysokou tenzi par, mají větší tendenci vystupovat z vodní fáze do ovzduší. Tyto sloučeniny jsou považovány za potenciálně degradovatelné. Identifikovány byly nejméně tři sloučeniny (N-MeFOSE, N-EtFOSE, N-EtFOSA), které mohou hrát významnou roli při distribuci PFAS a zvláště pak PFOS v životním prostředí. Důvodem je jejich schopnost degradace na PFOS [12].

Různé rozdělovací koeficienty jsou často využívány pro odhad míry přestupu organických kontaminantů mezi jednotlivými složkami životního prostředí. Pro odhad přestupu látky do tělesného tuku živočichů (bioakumulace) nebo sorpce na částice sedimentu slouží základní rozdělovací koeficient oktanol-voda (K_{ow}). Z toho plyne, že hlavními mechanismy pro distribuci jsou hydrofobní a hydrofilní interakce mezi sloučeninou a substrátem. Látky jsou pak rozdělovány podle zjištěného rozdělovacího koeficientu na polární a nepolární organické sloučeniny. To však neplatí pro fluorované povrchově aktivní sloučeniny. Jedním z důvodů je, že se právě vzhledem k perfluoraci nechovají fluorované surfaktanty jako běžné organické sloučeniny.

Perfluorované řetězce mají hydrofóbní (odpuzují vodu) a oleofóbní (odpuzují olej) povahu [3]. Proto nemají perfluorované sloučeniny tendenci se akumulovat v tukové tkáni, ani sorbovat na organickou matici, například sediment. Hydrofóbní interakce proto nejsou primárním sorbčním mechanismem perfluorovaných sloučenin. Předpokládá se že, PFOS je vázán na sedimenty chemisorpcí. To je důvod, proč K_{ow} není vhodným kritériem pro odhad sorpce surfaktantů v prostředí. Při chemisorpci tvoří látka s adsorbovanou fází chemickou vazbu, a proto je desorpce PFOS nepravděpodobná [12].

Perfluorované látky se přednostně akumulují v krevní plazmě a játrech, čímž se liší od ostatních perzistentních neutrálních lipofilních sloučenin, které se akumulují v tukových tkáních živých organismů [31].

Na obrázku č. 5 je znázorněn osud perfluorovaných sloučenin v životním prostředí. Ze schématu je zřejmé, že perfluoroalkylované sloučeniny a perfluorokarboxylové kyseliny jsou po atmosférické degradaci a biotransformaci konečnými produkty rozpadu.

The diagram illustrates the degradation pathways of various fluorinated compounds in the environment, leading to final breakdown products PFCAs and PFSA. The pathways are categorized into three main groups based on their initial source:

- FTOHs (Fluorinated Terephthalic Acid Derivatives):** These compounds are shown in a box under a cloud. They degrade into FTALs (Fluorinated Terephthalic Acid Lactones) and FTolefins (Fluorinated Terephthalic Acid Olefins). FTALs further degrade into PFALs (Perfluorinated Alkyl Lactones). FTALs and PFALs both lead to FTUCAs (Fluorinated Terephthalic Acid Carboxylic Acids), which then lead to PFCAs (Perfluorinated Carboxylic Acids).
- FBSEs/FOSEs (Fluorinated Benzenesulfonic Acid Derivatives):** These compounds are shown in a box under a cloud. They degrade into FBSAs/FOSAs (Fluorinated Benzenesulfonic Acid Sulfonates), which then lead to PFBSA/PFOSA (Perfluorinated Benzenesulfonic Acid Sulfonates). PFBSA/PFOSA leads to PFOSi (Perfluorinated Olefin Sulfonate), which then leads to PFSA (Perfluorinated Sulfonic Acid).
- FTSs (Fluorinated Terephthalic Acid Sulfonates):** These compounds are shown in a box under a cloud. They lead directly to PFCAs.

The final breakdown products are PFCAs and PFSA, which are shown in boxes at the bottom of the diagram. The background features a stylized landscape with clouds, rain, and fish, suggesting an aquatic environment.

Jedná se o proces, při kterém dochází k hromadění látky v organismu. Tento proces může probíhat dvěma způsoby: biomagnifikací (příjem látky potravou) a biokoncentrací (příjem látky přímo z vody). Byla provedena studie týkající se biokoncentrace PFOS v rybách. Nebyla však prozatím provedena studie týkající se bioakumulace perfluorovaných sloučenin u savců [17].

Na rozdíl od PFOS však nedochází u PFOA k biokoncentraci. Její BAF se pohybuje mezi 1,8 a 9,4 [17].

25

5.2 Perzistence

US EPA provedla studii týkající se hydrolýzy, fotolýzy a biodegradace PFOS [17]. Při sledování možnosti hydrolýzy PFOS ve vodě se ověřovala změna pH v rozmezí 1,5 – 11,0, teplota byla 50 °C. Tento pokus však neprokázal schopnost degradace PFOS ve vodě. Poločas rozpadu PFOS byl odhadnut na více než 41 let.

Proběhla také studie fotolýzy PFOS ve vodě. Nebylo však prokázáno, že by PFOS za nejruznějších podmínek podléhal fotolýze, a to jak přímé, tak nepřímé. Poločas rozpadu byl v případě nepřímé fotolýzy PFOS, probíhající při 25 °C, odhadnut na více jak 3,7 let.

V rámci různých studií byla také sledována schopnost biodegradace PFOS. Byla testována jak aerobní biodegradace PFOS v aktivovaném kalu (sedimentu), tak také biodegradace anaerobní. Žádný z těchto pokusů neprokázal jakékoliv projevy biodegradace PFOS. Jediným známým způsobem, při kterém PFOS degraduje, je spalování při velmi vysokých teplotách.

Jelikož PFOS nepodléhá hydrolýze, fotolýze a ani biodegradaci; lze ho tedy považovat za extrémně perzistentní.

5.3 Biodegradace

Mnoho fluorovaných organických sloučenin je rezistentní vůči hydrolýze, fotolýze i biodegradaci, a to díky vazbě uhlík–fluor, která má vysokou energii. Tato vazba C–F je nejsilnější jednoduchou vazbou prvku s uhlíkem. Její síla je však závislá na aktuální struktuře molekuly.

Perfluorované části řetězců jsou v prostředí relativně perzistentní, což vyplývá ze známého rozsahu transformace PFAS. Primární degradaci, při které dochází k přeměně nefluorované části molekuly, podléhá mnoho studovaných perfluorovaných sloučenin. Sloučenina je považována za primárně degradabilní, pokud je biodegradačním procesem změněna původní sloučenina. Degradací produkty mohou být perzistentní. Kompletní biodegradace nastane, pokud je původní sloučenina zcela přeměněna na CO₂, H₂O a anorganické soli.

PFOS a PFOA jsou s velkou pravděpodobností konečnými produkty aerobní degradace ECF-produktů. Bylo také zjištěno, že při biodegradaci ECF-produktů nedochází k ataku perfluorovaného alkylového řetězce. Jak již bylo zmíněno v bodě 6.2, PFOS je dále nedegradovatelný. Za aerobních podmínek se PFOA také nerozkládá. Výsledky testu anaerobní degradace PFOA nejsou zatím k dispozici. Dostupná data uvádějí, že fotolýza nemá zásadní vliv na degradaci PFAS [12].

6 TOXIKOLOGIE PERFLUOROVANÝCH SLOUČENIN

Mechanismus toxického účinku jednotlivých perfluorovaných sloučenin není doposud plně objasněn. Mezi možné škodlivé účinky může patřit vliv na transport a metabolismus mastných kyselin, na funkci membrán, případně na bioenergetické procesy probíhající v mitochondriích. Dostupné informace o metabolismu perfluorovaných sloučenin ukazují, že PFOS a PFOA nejsou živými organismy transformovány. Avšak ve studii provedené na potkanech bylo zjištěno, že 8:2 FTOH může být v určitém rozsahu transformován na PFOA [32].

6.1 Toxické účinky sledované ve vodním ekosystému

Několik studií se zabývalo odhadem účinků PFOS na vodní ekosystém [1]. Pozornost byla zaměřena spíše na ECF-produkty než na telomery. Formulace závěrů zaměřených na odhad toxicity perfluorovaných látek je však velice obtížná, a to z několika důvodů:

1. Testované materiály mají různou čistotu. Nečistoty mohou být toxické.
2. Testy byly prováděny v období několika desítek let. Potíže při porovnávání výsledků jednotlivých testů mohly být způsobeny změnou přesného složení komerčního materiálu během této periody.
3. Některé testy byly provedeny s koncentracemi vyššími, než je rozpustnost sledovaných kontaminantů ve vodě. Do vyhodnocení nemohly být proto zahrnuty výsledky těchto testů.
4. Isopropanol byl pro rozpuštění podávané látky použit v řadě toxikologických testů.
5. Pro testování toxicity PFOS byly použity jeho různé soli. Jelikož PFOS okamžitě disociuje na anion a odpovídající kation; předpokládá se, že výsledky testů pro jednotlivé soli jsou srovnatelné. Je však velice nepravděpodobné, že by tyto ionty byly toxikologicky významné. Výjimkou je dodecyldimethylamonná sůl (DDA) [1].

Pro hodnocení toxicity byla použita kategorizace dle Van Rijna [32]. Kategorie rozdělené podle LC_{50} jsou uvedeny v tabulce č. 10.

Tabulka č. 10: Klasifikace toxikologických dat [1]

Klasifikace	Akutní toxicita (LC_{50} v mg/l)	Chronická toxicita (LC_{50} v mg/l)
Extremně toxický	< 0,1	< 0,001
Vysoce toxický	< 1	< 0,01
Středně toxický	1 – 10	0,01 – 0,1
Mírně toxický	10 – 100	0,1 – 1
Téměř toxický	> 100	> 1

6.1.1 Sladkovodní organismy

Perfluorooktanosulfonát je netoxický pro sladkovodní a vyšší rostliny. Za hlavní kritéria pro posouzení toxicity této sloučeniny byly v uvedených studiích zvoleny rychlost a intenzita růstu. U bezobratlých živočichů vykazuje pak tato látka mírnou toxicitu.

Nejnižší spolehlivě naměřená hodnota byla pro ryby, konkrétně pro pstruha duhového (*Oncorhynchus mykiss*) LC_{50} 7,8 mg/l.

Při dalším hodnocení subchronické a chronické expozice PFOS se ukazuje, že ryby jsou mnohem citlivější na přítomnost této sloučeniny, než bezobratlí živočichové a řasy. Během 62denní expozice ryb při koncentraci PFOS 0,086 mg/l nebyl pozorován nepříznivý účinek. Při koncentraci 0,87 mg/l a 35denní expozici však ryby vykazovaly 100 % úmrtnost.

Pro všechny testované druhy sladkovodních organismů (ryby, řasy, bakterie) není PFOA akutně toxická. Dále lze konstatovat, že PFOA není pro ryby a řasy toxická ani chronicky, a to ani subchronicky.

6.1.2 Mořské organismy

Pouze v případě PFOS jsou dostupná toxikologická data pro organismy žijící v mořském ekosystému. V rozsahu testovaných koncentrací PFOS (do 15 mg/l) nebyly pozorovány škodlivé účinky na mořské organismy.

Ve studii chronické toxicity provedené na krevetách se NOEC, a to s ohledem na hodnocení míry přežití, reprodukci a růst, pohybovala v rozsahu 0,25 – 0,55 mg/l. Bylo také zjištěno, že PFOS je středně toxický pro mořské bezobratlé organismy [1].

6.2 Toxicita pro savce

6.2.1 Osud v těle savců

Do organismu člověka může PFOS proniknout orální cestou, inhalací nebo v malé míře také dermální cestou. Po vstupu do organismu dochází k jeho adsorpci a distribuci, a to zejména do jater a tělních tekutin. Poté se váží na proteinovou složku tkání. K metabolické přeměně PFOS v těle však nedochází. PFOS je vylučován močí a stolicí, nicméně existuje jen malá pravděpodobnost, že jsou z lidského organismu během života zcela eliminovány. Odhaduje se, že polovinu přijatého množství PFOS lidské tělo vyloučí přibližně za 9 let [2]. Ve srovnání s opicemi rodu *Cynomolgus* (poločas vyloučení 200 dní) se jedná o relativně velmi dlouhou dobu [33].

PFOA je v těle člověka také velmi dobře absorbována. Do těla proniká orálně, inhalací a v menší míře také dermálně. Pokusy prováděnými na potkanech bylo zjištěno, že PFOA se nehromadí v tuku, nýbrž se kovalentně váže na makromolekuly, zejména bílkoviny obsažené v játrech, plazmě a varlatech samců [37]. Co se týče člověka, PFOA není metabolizována v játrech, v plazmě, ani v ledvinách. Odstraňovaná je z těla savců prostřednictvím moče a stolice. Bylo odhadnuto, že polovina přijatého množství PFOA může být z těla člověka odstraněna až za 1 až 3 roky [2]. Měřením hladin perfluorovaných látek u exponovaných zaměstnanců bylo zjištěno, že poločas vyloučení PFOA z krevního séra je až 4,4 roku [38].

V různých studiích byl rovněž pozorován rozdíl mezi pohlavími potkanů, psů a křečků. Bylo zjištěno, že u samic potkanů je PFOA vylučována mnohem rychleji než u samců. Ukázalo se, že hormon testosteron u samců brání vylučování ledvinami. Podáváním testosteronu samicím nebo vykastrovaným samecům tak lze snížit hladiny PFOA v těle. Podobný rozdíl mezi pohlavími byl pozorován rovněž u psů, zatímco u křečků byl rozdíl zcela opačný. U myší, králíků, primátů nebo člověka nebyl žádný vliv pohlaví prokázán.

Délka perfluorovaného řetězce perfluorokarboxylových kyselin je nejdůležitější pro exkreci. Snadnost vylučování kyselin klesá s délkou jejich řetězce [1].

6.2.2 Akutní toxicita

Dostupná toxikologická data, získaná pro PFOS a PFOA na základě testů provedených na hlodavcích, jsou shrnuta v tabulkách č. 11 a 12 [1].

Tabulka č. 11: Akutní toxicita PFOS pro hlodavce

Aplikace	Exponovaný druh	Výsledek
Orální	Potkani	LD ₅₀ = 251 mg/kg
		1 h LC50 = 5,2 mg/kg
Podráždění očí	Králici	Mírně dráždivý
Podráždění kůže		Nedráždivý

Tabulka č. 12: Akutní toxicita PFOA pro hlodavce

Aplikace	Exponovaný druh	Výsledek
Orální	Potkani	LD ₅₀ > 500 mg/kg (samci) LD ₅₀ = 250 – 500 mg/kg (samice)
	Wistar potkani	1 h LC50 = 5,2 mg/kg
Inhalace	Potkani	1 h NOEC > 18,6 mg/l
Kožní	Králici	LD ₅₀ > 2000 mg/kg
Podráždění očí	Králici	Dráždivý
Podráždění kůže	Králici	Nedráždivý

6.2.3 Chronická toxicita

Na významné riziko úmrtí na rakovinu močového měchýře poukázala 37 let trvající epidemiologická studie [41]. Toto riziko se týkalo pracovníků, kteří pracovali 15 let v závodě na výrobu perfluorovaných látek. Tři úmrtí poukazují na souvislost mezi incidencí rakoviny a expozicí perfluorovaných látek.

Bylo také zjištěno zvýšené riziko rakoviny gastrointestinálního traktu a rakoviny prostaty u mužů.

7 ANALYTICKÁ CHEMIE PERFLUOROVANÝCH SLOUČENIN

7.1 Všeobecné poznatky

Postupy pro detekci, identifikaci a kvantifikaci fluorovaných sloučenin v životním prostředí vyžadují vysokou úroveň odborné expertizy. Komplexní směsi možných sloučenin v produktu, rozmanité matrice, ve kterých mohou být obsaženy (např. atmosféra, půdy, povrchové vody, podzemní vody, odpadní vody, různé živočišné tkáně, různé zvířecí druhy, rostlinné druhy, jídla atd.) a zejména detekce stopového množství vyžadují selektivní extrakci a různorodé analytické techniky [18].

Zájem o perfluoroalkylované sloučeniny se projevil poměrně nedávno. Jedna z nejstarších technik stanovení organického fluoru, která byla nalezena v literatuře, využívá spalování. Celkový organický fluor může být určen tzv. Wickboldovou spalovací metodou, tj. převedením organického fluoru na rozpustný fluorid. Vzorek se vypařuje ve spalovací komoře, kde se rozkládá na oxid uhličitý a fluorovodík. Fluorovodík se poté absorbuje v roztoku hydroxidu sodného a je titrován dusičnanem thoričitým [45]. Tyto techniky byly užívané pro určení celkového fluoru v environmentálních a biologických vzorcích [1].

7.1.1 Odběr, skladování a konzervace vzorků

Nejdůležitějším krokem analytického procesu je odběr reprezentativního vzorku. Hladiny PFAS v životní prostředí jsou velmi nízké, a proto je důležité zabránit znečištění vzorku při odběru, transportu a zpracování v laboratoři. Aby bylo možné eliminovat zdroje možných chyb, je nutné realizovat systém kontrolních vzorků (blanků). Správný způsob skladování a uchování vzorků pro analýzu perfluorovaných sloučenin je důležitým krokem k zabránění kontaminace a ztrátám PFAS ve vzorku.

Zařízení pro odběr vzorků by nemělo umožňovat adsorpci, absorpci, popřípadě ztráty při odpařování. Doporučuje se proto vypláchnout před odběrem vzorkovače polárními nebo semipolárními rozpouštědly, jakými jsou například aceton, methanol, MTBE nebo deionizovaná voda. Také povrchově aktivní charakter ionogenních i neionogenních perfluoroalkylovaných sloučenin nelze při vzorkování pominout. Dále se doporučuje analyzovat vzorky PFAS ihned po procesu vzorkování, což ale nelze pokaždé zajistit. Z tohoto důvodu je nutno skladovat vzorky za vhodných podmínek, aby nedošlo ke změně jejich koncentrace a složení. Okyselení reálných vzorků vody za účelem skladování je třeba se vyhnout, protože v reálných vzorcích může ztráta iontového charakteru (z důvodů spojení protonu) vést k adsorpci na odběrové zařízení. U biologicky aktivních vzorků, jakými jsou odpadní kaly, může dojít k biotransformaci PFAS [46].

Vzorky se nejčastěji konzervují v mrazících boxech nebo lednicích. Szostek a kol. zkoumali stabilitu relativně těkavých perfluorovaných sloučenin ve vodných roztocích smíchaných s acetonitrilem. Testovali různé podmínky skladování v průběhu jednoho týdne a zjistili, že nejlepší způsob uchovávání vodných vzorků je skladování v mrazícím boxu ve skleněné lahvi, která je uzavřena septem a utěsněna hliníkovou fólií [46].

7.1.2 Úprava vzorků, čištění

Cílem extrakce a přečištění je:

- ✓ Převedení analytů do fyzikální podoby, která umožní analýzu a detekci
- ✓ Obohacení cílového analytu
- ✓ Vyčištění extraktu před instrumentální analýzou

Předúprava vzorku před extrakcí PFAS z matrice je nezbytným krokem, který slouží k usnadnění extrakce nebo k odstranění matrice, která by mohla rušit extrakci nebo samotnou analýzu. Na obrázku č. 8 je zobrazeno několik způsobů úpravy vzorků. K separaci pevné a kapalné fáze může být použita filtrace, avšak tento krok může způsobovat ztráty PFAS adsorpcí na filtrech. Na druhou stranu mohou hladiny PFAS narůstat v důsledku kontaminace pocházející z materiálu filtru (např. skleněné vlákno, nylon, acetát celulózy). Jako alternativu pro separaci pevné a kapalné fáze lze použít centrifugaci. Aby se předešlo ucpání SPE kolonek, je nutno ke vzorku matric, odebraných od lidí (krev, sérum, plazma), přidat kyselinu trichloroctovou, kyselinu mravenčí, případně acetonitril. Po tomto kroku obvykle následuje oddělení sraženin z kapalné fáze pomocí výše zmíněné centrifugace [46].

Extrakty různých typů vzorků (např. rybí játra, vzorky s vysokým obsahem tuku, sedimenty, vzorky čistírenských kalů atd.) vyžadují k odstranění nežádoucích složek matric čištění (clean-up). Bez přečištění extraktů by mohlo dojít k posílení nebo potlačení ionizace a k následným chybám analýzy. Přečištění vzorků vod se obecně provádí pomocí SPE [46].

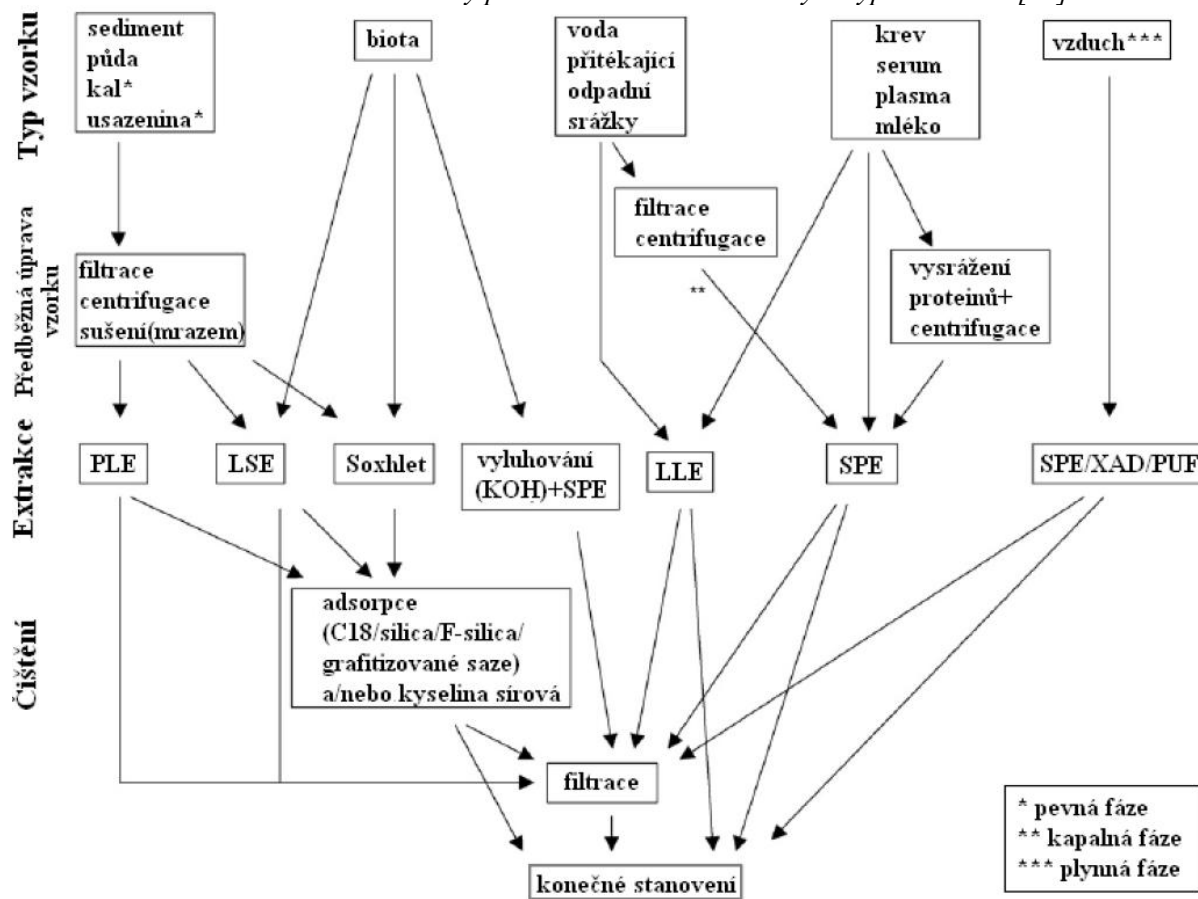
Abiotické matrice (půda, sediment, čistírenské kaly) mohou být přečištěny přidávkem aktivního uhlí a 50 µl ledové kyseliny octové. Další možností přečištění abiotických matric je využití C₁₈-SPE kolonek, promytí Milli-Q vodou a následná eluce 4 ml MeOH. Biologické matrice (krev, plazma, sérum, játra, případně rostlinné tkáně), mohou být přečištěny přidáním 25 mg aktivního uhlí k surovému extraktu a 50 µl ledové kyseliny octové [46].

Přečištění extraktů ze vzorků vzduchu se většinou neprovádí, ačkoli nedávná studie naznačuje, že vliv matrice může hrát důležitou roli při instrumentálním stanovení N-substituovaných sulfonamidů [47].

Perfluorované sloučeniny vyžadují různé extrakční techniky, vzhledem k jejich odlišné polaritě. Pro efektivní zachycení, a to ve vodě rozpustných sloučenin, vyžadují ionogenní perfluorované sloučeniny s krátkými řetězci (C₄ – C₆) středně polární média (Oasis WAX SPE, acetonitril, methanol). Pro zachycení neionogenních sloučenin s delšími řetězci se mohou použít nepolární média (např. SPE-C₁₈, Oasis HLB, hexan) [46].

Na obrázku č. 6 jsou přehledně uvedeny metody extrakce pro různé typy matric.

Obrázek č. 6: Extrakční a čisticí metody pro stanovení PFAS v různých typech matric [46]



7.1.3 Analytická koncovka stanovení PFAS

Analytické postupy využívané k separaci, identifikaci a kvantitativní analýze perfluorovaných sloučenin využívají těchto technik:

- ✓ Vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC, High Performance Liquid Chromatography)
- ✓ Vysokoúčinná kapalinová chromatografie s fluorescenčním detektorem (HPLC/FD, HPLC with a Fluorescence Detection)
- ✓ Vysokoúčinná kapalinová chromatografie s hmotnostním spektrometrem (HPLC/MS, HPLC with a Mass Spectrometer)
- ✓ Vysokoúčinná kapalinová chromatografie s tandemovou hmotnostní detekcí (HPLC/MS/MS, HPLC Tandem Mass Spectrometry)
- ✓ Plynová chromatografie s plamenově ionizačním detektorem (GC/FID, Gas Chromatography with a Flame Ionization Detector)
- ✓ Plynová chromatografie s fotoionizačním detektorem (GC/PID, Gas chromatography with a Photo Ionization Detector)

- ✓ Plynová chromatografie s detektorem elektronového záchytu (GC/ECD, Gas chromatography with an Electron Capture Detector)
- ✓ Plynová chromatografie s hmotnostním spektrometrem (GC/MS, Gas Chromatography with a Mass Spectrometer).

7.1.3.1 Stanovení PFAS metodou LC/MS

Pro separaci perfluoroalkylovaných sloučenin lze použít vysokoúčinnou kapalinovou chromatografii na obrácené fázi (RP-HPLC). K oddělení PFAS se nejčastěji využívá nepolární stacionární fáze se skupinami C_{18} , C_8 a perfluorovanými C_8 skupinami. Eluční podmínky a mobilní fáze se liší podle typu stanovovaných sloučenin; doporučuje se použití gradientové eluce směsí MeOH/voda [51, 52].

Kolonu s náplní C_{18} o rozměrech (150 mm x 3 mm x 3 μ m) je možné použít pro separaci perfluorokarboxylových kyselin. K tomuto účelu se využívá mobilní fáze o složení acetonitril/26 μ M ledová kyselina octová v poměru 60 : 40 (v : v), při průtoku 0,3 ml/min ($t = 30\text{ }^{\circ}\text{C}$).

Další kolona, která je vhodná k separaci PFAS s různými délkami řetězce, je kolona C_{18} o rozměrech 50 mm x 2,1 mm x 5 μ m. Elučním činidlem je v tomto případě směs MeOH/2 mM vodný roztok octanu amonného. Pro oddělení perfluorokarboxylových kyselin byla také použita kolona C_{18} (100 mm x 2,1 mm x 5 μ m); směs acetonitril/2 mM vodný roztok octanu amonného byla použita jako mobilní fáze [52].

Průtoková rychlost kolonou, množství nadávkovaného vzorku a průběh eluce se liší v rámci různých studií.

Pro finální analýzu perfluorovaných sloučenin se často využívá spojení kapalinové chromatografie s hmotnostní spektrometrií (LC/MS) nebo s tandemovou hmotnostní spektrometrií (LC/MS/MS). Ionizace elektrosprejem v negativním módu (ESI(-)) je nejvhodnější způsob ionizace perfluoroalkylovaných sloučenin v hmotnostním spektrometru. Jako sušící plyn se používá dusík a kolizním plynem je argon [52]. Pseudomolekulární ionty jsou tvořeny jako $[M-H]^-$ pro PFOA (m/z 413), $[M-K]^-$ pro PFOS (m/z 499) a FOSA (m/z 498).

Chemická ionizace za atmosférického tlaku (APCI) patří mezi další často používané způsoby ionizace [53].

Ve spojení s kapalinovou chromatografií se pro stanovení PFAS nejčastěji používají analyzátory s iontovou pastí nebo kvadrupólové analyzátory. Výhodou iontové pastí je možnost MSn analýzy v jednom analyzátoru [53].

7.2 Analýza půd, sedimentů a odpadního kalu

7.2.1 Vzorkování

Při procesu vzorkování půd, sedimentů nebo odpadního kalu je důležitý výběr odběrového zařízení. Aby nedošlo ke kontaminaci vzorku, nesmí tato zařízení obsahovat materiály na bázi fluoropolymerů (např. nepředčištěný PP a PE). Při odběrech matric je také potřeba věnovat velkou pozornost minimalizaci porušení přirozeného uložení sedimentu/kalu. Díky povrchové aktivitě perfluorovaných sloučenin se v sedimentech projevuje vertikální nehomogenní distribuce. Podle vrstev, které vznikly usazováním částic sedimentu, může vertikální distribuce v sedimentech odrážet časovou úroveň kontaminace. Heterogenní distribuce PFAS v sedimentech vyžaduje vzorkování velkých ploch a důkladné homogenizování vzorků před odběrem alikvotního podílu [45].

7.2.2 Úprava vzorku

Pevné materiály se zpravidla extrahují pomocí Soxhletovy extrakce, tlakové kapalinové extrakce (PLE), destilace horkými parami rozpouštědla nebo pomocí ultrazvuku. Schroeder porovnal první tři výše zmíněné typy extrakčních technik a došel k závěru, že PLE je nejúčinnější, pokud se použije extrakční směs methanol : kyselina fosforečná. Alzaga a kol. testovali účinnost PLE z různými typy rozpouštědel a dosáhli nejlepších výsledků v případě použití extrakční směsi aceton : methanol (1 : 3) [45].

Další možností izolace PFAS z pevných matric je aplikace vysokotlaké extrakce rozpouštědlem (PSE). Jedná se o techniku extrakce analytů z pevných nebo polopevných vzorků za použití organického rozpouštědla. Extrakce se provádí za zvýšené teploty a tlaku, což vede ke zvýšení extrakční účinnosti a zkrácení doby extrakce. Zvýšený tlak při PSE je nutný, aby rozpouštědlo zůstalo v kapalném stavu i při zvýšené teplotě. Tímto je umožněna extrakce rozpouštědlem za teplot podstatně vyšších, než je normální bod varu rozpouštědla za atmosférického tlaku. Nevýhodou této metody je v případě stanovení PFAS obsah teflonových částí v přístroji. Aby nedošlo ke kontaminaci vzorků, je nezbytné teflonové části nahradit nerezovými [46].

Higgins a kol. vyvinuli metodu založenou na principu promývání kalu (sedimentu) kyselinou octovou a opakovaně extrakci okyseleného kalu v ohříváné ultrazvukové lázni. Ke vzorku se přidá 10 ml kyseliny octové a směs se extrahuje po dobu 15 minut v ultrazvukové lázni, vyhřáté na 60 °C. Po následné centrifugaci se ke směsi přidá 2,5 ml 1% kyseliny octové v roztoku MeOH : H₂O, 90 : 10, (v : v) a znovu se provede sonikace (2-3x). Po těchto krocích následuje přečištění vzorku pomocí SPE patron proplachovaných MeOH a finální analýza na LC/MS/MS [50].

Pro stanovení perfluorovaných sloučenin ve vzorcích sedimentu a kalu byla úspěšně použita PLE s MeOH jako rozpouštědlem. Po tomto kroku následovala ultrazvuková extrakce, kde byl jako rozpouštědlo použit octan amonný. Před vlastní analýzou na LC/MS nelze opomenout přefiltrování extraktu [45].

Powley a kol. vyvinuli metodu, u které je vzorek prostý matrice. Princip této účinné metody spočívá v rozpuštění vzorku v 200 mM NaOH, extrakci pomocí 20 ml MeOH (30 minut

protřepat), neutralizaci pomocí HCl a následné centrifugaci. Po těchto krocích se přidá grafitizovaný uhlík, vzorek se 30 minut protřepe a znovu zcentrifuguje [46].

Ultrazvukovou extrakci s MTBE pro získání PFOA a PFOS z mořských a sladkovodních sedimentů použili De Voogt a kolektiv [45].

7.2.3 Metoda stanovení

Perfluorované karboxylové kyseliny ve vzorcích přístavních sedimentů byly stanoveny pomocí GC/MS s negativní chemickou ionizací a amoniakem jako reakčním plynem. Pro PFCA-alkyesterové deriváty je tato metoda výhodná, protože vyniká citlivostí a selektivitou. Kvantifikace spočívá na principu sumy následujících m/z : $[M]^-$, $[M-HF]^-$, $[M-OC_4H_9F]^-$, $[M-O_2C_5H_9F]^-$ a $[M-OC_5H_9F_3]^-$. Nevýhodou této metody je nutnost derivatizačního kroku. Mez detekce pro PFDA a PFOA byla v rozmezí 0,5 – 0,8 ng/g [45].

Pro analýzu sedimentů a odpadních kalů je možné využít LC/MS za použití gradientové eluce pomocí směsi octanu amonného, methanolu a vody. Higgins a kol. analyzovali PFAS v sedimentech pomocí LC/MS/MS [45].

Vybrané metody pro stanovení PFAS v pevných vzorcích jsou uvedeny v příloze č. 3 (tabulka č. 22).

7.3 Analýza vody

7.3.1 Vzorkování

Při procesu vzorkování vod musíme brát v úvahu povrchově aktivní vlastnosti perfluorovaných sloučenin. S přibývajícím vzdáleností od mezifázového rozhraní klesá prudce koncentrace surfaktantů, což vyplynulo z výzkumů nefluorovaných povrchově aktivních látek. To je způsobeno přirozenou tendencí PFAS držet se na rozhraní voda/vzduch. Vybavení pro odběr vzorků vod by mělo být vyrobeno z materiálů, které neobsahují fluoropolymery [45].

U materiálů vzorkovnic vyrobených z polypropylenu (PP) nebo z vysokohustotního polyethylenu (HDPE) může docházet k nevratné adsorpci PFAS s řetězcem ($>C_{10}$), PFOSA a N-EtFOSA na povrchu vzorkovnic. V případě okyselení vody ve vzorkovnici se absorbují také PFOS a PFOA. U perfluorovaných sloučenin s kratšími řetězci nedochází k absorpci na povrchu vzorkovnic, díky jejich dobré rozpustnosti ve vodě (při neutrálním pH) [46].

Při vzorkování neiontových perfluorovaných sloučenin, které jsou relativně těkavé, lze zabránit případným ztrátám použitím konzervační látky. Použití formaldehydu se však nedoporučuje, protože může dojít ke snížení odezvy analytu [45]. Dále se k zabránění ztrát těkavých sloučenin doporučuje naplnění vzorkovnice až po zátku a tím minimalizace volného prostoru vyplněného vzduchem [46].

7.3.2 Úprava vzorku

Vzhledem k povrchově aktivním vlastnostem PFAS je vhodné vyhnout se úpravě vzorků vod pomocí filtrace. Pokud tak učinit nelze, doporučuje se použití polypropylenových filtrů,

na které se PFAS sorbují nejméně. Odstranit zbytkový chlor v mořské vodě lze přidáním thiosíranu sodného [45].

Extrakce aniontových PFAS ze vzorků vod může být usnadněna pomocí iontového párování s tetrabutylovým nebo tetrapropylamoniovým kationtem v prostředí vysokého pH pro zvýšení disociace kyseliny. Aby došlo k zabránění disociace, může být extrakce provedena naopak okyselením [45].

Hansen a kol. vyvinuli metodu, která je nejvíce využívána. Tato metoda spočívá v přímé extrakci pevnou fází C_{18} (SPE) bez předchozí acidifikace nebo přidání iontového činidla. Pokud jsou koncentrace PFAS ve vzorku velmi nízké, je nutné provést zakoncentrování. K tomuto účelu lze použít extrakci LLE nebo SPE. V případě SPE je možné použít hydrofóbní (většinou C_{18}), smíšené hydrofóbní/polární a čistě polární stacionární fáze pro zachycení perfluorovaných sloučenin. Polární stacionární fáze obsahuje disky s iontoměničem. Analyty zachycené na těchto discích mohou být současně desorbovány a derivatizovány zahřátím na teplotu 80 °C, ve směsi s acetonitrem a metyljodidem. Alternativně lze použít SPME [45].

7.3.3 Metoda stanovení

Alzaga a Bayona použili k analýze PFAS ve vzorcích odpadní a mořské vody SPME s iontovým párováním, v kombinaci s derivatizací a stanovením pomocí GC/MS. Postup je velmi rychlý a není nutné použití rozpouštědel. Vysoký rozsah mezi stanovitelností (50 – 2500 ng/l) omezuje však použití tohoto postupu pouze na vysoce kontaminované vzorky [48].

González-Barreiro a kol. vyvinuli metodu pro stanovení PFAS v odpadních vodách ČOV za pomoci LLE. Extrakce kapalina-kapalina je výhodná, protože ji lze provádět přímo ve vzorkovnici. Další výhodou je možnost snížení detekčních limitů zvýšením objemu vzorku na rozdíl od SPE, kde by mohlo dojít k ucpání kolon. Z výše popsané metody vyplynulo, že LLE je nejlepší pro PFAS s délkou řetězce větší jak sedm, zatímco SPE je nejvýhodnější pro PFAS s délkou řetězce méně jak deset [48].

Scott a kol. stanovili PFOA ve vzorcích vod o velkém objemu (20 – 50 l) extrakcí na XAD-7 pryskyřici. Po derivatizaci a následné analýze pomocí GC/MS dosáhli detekčního limitu metody 10 pg/l [48].

Theobald a kol. popsali metodu stanovení několika PFAS ve vzorcích mořské vody v rozsahu objemu (10 – 30 l) pomocí SPE na HR-P pryskyřici a detekci pomocí LC/MS/MS. Mez stanovitelnosti se pohybovala v rozmezí 2 až 41 pg/l [48].

Pro stanovení PFAS s alkylovými řetězci, majícími osm až devět uhlíků, ve vzorcích vody se nejčastěji využívá SPE s iontovým párováním nebo bez iontového párování, popřípadě lze využít SPE s acidifikací. Jako analytickou koncovku se doporučuje použít LC/MS/MS. V případě stanovení PFOS byla úspěšně použita LC/MS s mezí detekce 0,1 ng/l. Vzorek vody byl upraven pomocí SPE s kolonkou, která obsahovala polymetakrylát a styrendivinybenzen [45].

Přehled vybraných metod pro stanovení PFAS ve vodných vzorcích je uveden v příloze č. 3 (tabulka č. 23).

7.4 Analýza vzduchu

7.4.1 Vzorkování

Způsoby vzorkování ovzduší pro stanovení perfluorovaných sloučenin se zpravidla neliší od způsobů vzorkování pro analýzu ostatních halogenovaných sloučenin [45]. Pro odběry ovzduší a následnou analýzu persistentních organických polutantů se běžně používá aktivní vzorkovač volného ovzduší, například velkoobjemové čerpadlo typu PS-1 (výrobce Thermo-Andersen, USA). V odběrové hlavici vzorkovače jsou umístěny dva disky - předčištěný polyuretanový disk (PUF) a křemenný disk (quartz). Kontaminanty přítomné v plynné fázi zachycují PUF disky, zatímco polutanty sorbované na prašnou frakci zachycují disky quartz (US EPA metodika TO-13) [49].

Informaci o dlouhodobé kontaminaci vybraného místa poskytují pasivní vzorkovače. Díky tomu mohou být použity jako screeningová metoda pro semikvantitativní porovnání různých lokalit. Jejich výhodou je poskytování dlouhodobé průměrné hodnoty při malé citlivosti ke krátkodobým náhodným změnám koncentrace polutantů. Možnost využití těchto vzorkovačů ve vzdálených a nepřístupných oblastech je značnou výhodou [49].

Pasivní vzorkovače jsou ve své funkci velice jednoduchá zařízení. K procesu odběru vzorku dochází v důsledku existence rozdílných chemických potenciálů mezi dvěma médii. Při vzorkování proudí vzduch samovolně kolem pasivně vystaveného disku, membrány, nebo jiného média, do něhož se zachycuje sledovaný polutant. Médium se po skončení odběru analyzuje a přepočtem se zjistí koncentrace polutantu v ovzduší. Mezi hlavní faktory ovlivňující sorpční kinetiku pasivních vzorkovačů patří zejména délka expozice, teplota a rychlost větru [49].

7.4.2 Úprava vzorku

Vzhledem k možné kontaminaci vzorků je zapotřebí před vzorkováním PUF vrstvy a XAD pryskyřici (kopolymer styrenu a divinylbenzenu) řádně přechistit. K tomuto účelu se nejčastěji používá ultračistá voda, hydroxid sodný, případně je možné použít několikadenní promývání různými rozpouštědly v Soxhletově extraktoru. Izolace analytů ze sorbentů se nejběžněji provádí pomocí kombinování středně polárních rozpouštědel, jakými jsou například methanol, ethylacetát a petrolether [46].

7.4.3 Metoda stanovení

Martin a kol. jako první vyvinuli metodu pro stanovení 6:2, 8:2, 10:2 FTOH, N-EtFOSA, N-EtFOSE, N-MeFOSE izolovaných ze vzduchu pomocí velkoobjemového vzorkovače s XAD-2/PUF sorbentem a filtry ze skelných vláken. Izolace analytů byla provedena pomocí MeOH a EtOAc. Jako analytická koncovka byla použita GC/MS [48].

Pro vzorkování PFOA ve vzduchu v okolí jezera Ontario využili Boulanger a kol. velkoobjemové vzorkovače s filtry ze skelných vláken a XAD-2 pryskyřicí. Analyty byly

z filtrů a pryskyřice extrahovány pomocí směsi aceton : methanol a přečištěny na koloně plněné florisilem. Po eluci analytů ethylacetátem následovalo stanovení pomocí LC/MS [45].

Shoeib a kol. použili pro vzorkování ovzduší pasivní vzorkovače, které obsahovaly filtry ze skelných vláken a polyuretanové pěny. Analyty z filtrů byly extrahovány pomocí Soxhletovy extrakce a následně analyzovány pomocí GC/MS. Mez detekce byla v rozmezí 0,3 – 20 pg/m³ [48].

Vybrané metody pro stanovení PFAS ve vzorcích vzduchu jsou uvedeny v příloze č. 3 (tabulka č. 24).

7.5 Biologický materiál

První zmínka o přítomnosti fluorovaných organických sloučenin v lidské krvi pochází již z roku 1968. Analytické metody pro stanovení organického fluoru byly v té době založeny na principu zjištění celkového obsahu fluoru ve vzorku (viz. kapitola 8.1). Využití chromatografických metod pro stanovení fluorovaných organických látek se datuje od počátku osmdesátých let [45].

Belise a Hagen vyvinuli metodu, která spočívala v okyselení moči, krve nebo zhomogenizované jaterní tkáně, s následnou extrakcí perfluorokarboxylových kyselin pomocí směsi hexan : diethylether 8 : 2 (v : v). Perfluorokarboxylové kyseliny byly po methylaci stanoveny na plynovém chromatografu vybaveném detektorem elektronového záchytu. Dobrých výsledků bylo dosaženo jen pro kyseliny s osmi atomy uhlíku; pro kyseliny s deseti atomy uhlíku byla výtěžnost okolo 40 % a pro C₁₂ méně jak 10 % [46].

Ion-párové extrakce v zásaditém prostředí pomocí kvartérních amoniových kationů zavedli Ylinen a kolektiv. Princip metody spočíval v použití tetrabutyl (TBA) hydroxidu sodného jako iontového činidla (pH = 10) a použití ethylacetátu jako extrakčního činidla [45].

Hansen a kol. upravili později tento způsob pro analýzu na LC/MS/MS s využitím MTBE jako extrakčního rozpouštědla [46].

Ohya a kol. použili metodu ion-párové extrakce s TBA pro izolaci perfluorokarboxylových kyselin (C₆ – C₁₀) z jaterní tkáně za použití extrakční směsi ethylacetát : hexan 1 : 1 (v : v). Po derivatizaci s 3-bromo-acetyl-7-methoxikumarinem, následovala analýza pomocí LC/MS [46].

Tato metoda byla použita i pro stanovení PFCA (C₆ – C₁₀) v moči, séru a stolici, s předřazenou extrakcí pomocí směsi ethylacetát : aceton (1 : 1) [45].

Heuvel a kol. izolovali PFCA z biologických matric pomocí dělení fází. V této studii dospěli k závěru, že pro extrakci perfluorokarboxylových kyselin z tkání je nezbytné okyselení v solném roztoku pomocí H₂SO₄. Přečištění vzorků bylo provedeno na silikagelových kolonách, které byly promývány směsí diethylether : kyselina trifluoroctová 100 : 1 (v : v) [46].

Perfluoroalkylované sulfonamidy v biologických vzorcích mohou být stanoveny na GC/MS. Extrakce se provádí směsí hexan : aceton 2 : 1 (v : v). Dále následuje odstranění lipidů pomocí H₂SO₄ a separace na silikagelu. Pro hydrofóbní sloučeniny dosahuje tato metoda

lepších mezi detekce (100 – 250 pg/g) a kvantifikace (330 – 830 pg/g), než metoda iontového párování. Velkou výhodou je možnost oddělení lineárních a větvených izomerů [46].

Screeningovou metodu pro analýzu perfluorovaných sloučenin ve vzorcích jater vyvinuli Berger a Haukås. Princip metody je založen na ultrazvukové extrakci za použití 2 mM octanu amonného ve směsi MeOH : H₂O (50 : 20) jako rozpouštědla. Extrakt se dále filtruje přes filtrační papír Kleenex a centrifugační filtr Microcon YM-3. Finální analýza se provádí pomocí LC/MS. Nevýhodou metody je závislost na matici vzorku a vnitřním standardu. Výhodou je však úspora času, nákladů a jednoduchá manipulace se vzorkem [45, 46].

Stanovení 8:2 FTOH v plazmě a tkáních zvířat lze provést metodou GC/MS. Extrakce se provádí pomocí n-hexanu, heptanu nebo MTBE [45].

7.6 Potraviny

Titllemier a kolektiv popsali metodu pro stanovení perfluorooktansulfonamidu a N-alkylovaných sulfonamidů ve vzorcích potravin, ryb a mořských savců. Vzorky byly po homogenizaci extrahovány pomocí SLE směsí hexan : aceton v poměru 2 : 1. Po tomto kroku následovalo vysušení extraktů síranem sodným, odstranění lipidů a přečištění na silikagelové koloně. Analýza byla provedena na GC/MS s detekčním limitem metody v rozmezí 0,1 – 0,25 ng/g [48].

Gulkowska a kol. popsali metodu pro stanovení perfluoroalkylovaných sloučenin a perfluorokarboxylových kyselin ve vzorcích mořských plodů. Vzorky byly extrahovány pomocí ion-párové extrakce a stanoveny na LC/MS/MS s LOQ = 0,25 ng/g [48].

Fromme a kol. publikovali metodu pro stanovení PFAS ve vzorcích potravin za použití ultrazvukové extrakce s MeOH. Po extrakci následovalo přečištění pomocí SPE kolonek Oasis Wax. Perfluorované sloučeniny byly stanoveny metodou LC/MS/MS s mezí detekce 0,05 – 0,2 ng/g [48].

7.7 Spotřební zboží

Přehled metod pro stanovení PFAS ve spotřebním zboží je shrnut na obrázku č. 14. Většina analytických postupů je navržena za účelem odhalení možné expozice člověka perfluorovanými sloučeninami z produktů, které byly ošetřeny těmito látkami. Spotřební výrobky zahrnují širokou škálu materiálů, které mohou být analyzovány [48].

Mawn a kol. popsali metodu pro stanovení PFOA ve vzorcích koberců a textilií. Jako rozpouštědlo použili vodu nebo MeOH. Stanovení bylo provedeno na LC/MS/MS s LOQ v rozmezí 1 – 3 ng/g [48].

Powley a kol. simulovali podmínky běžné při vaření, aby vyšetřili extrahovatelnost PFOA z kuchyňského nádobí. Mez detekce byla 100 pg/cm². PFOA byla extrahována buď vodou s následnou SPE nebo pomocí PLE se směsí ethanol : voda. Analýza byla provedena pomocí systému LC/MS/MS [48].

V studii zpracované v Dánsku, publikované v roce 2002, bylo analyzováno nejrozličnější spotřební zboží, jako například vosky na leštění podlah, impregnační prostředky na textil a obuv apod.. Vosky a kapaliny z rozprašovačů byly zředěny MeOH, DCM nebo acetonem a analyzovány na LC/MS/MS. Mez detekce byla pro většinu analytů pod 1 mg/l produktu [45].

8 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

8.1 Používané přístroje, zařízení a software

8.1.1 Zařízení pro přípravu a extrakci vzorků

- ✓ Analytické váhy HR-120, A&D Instruments, Japonsko
- ✓ Běžné vybavení analytické laboratoře
- ✓ Ultrazvuková lázeň, typ Teson 4, Tesla, Česká republika
- ✓ Přístroj EVATERM pro sušení pod dusíkem, Labicom, Česká republika
- ✓ Zařízení pro přípravu MilliQ vody Millipore QGARD
- ✓ Zařízení pro SPE extrakci Baker SPE-12G, s vakuovou pumpou Barmany, Co.,USA

8.1.2 Kapalinová chromatografie

- ✓ Kapalinový chromatograf Agilent 1100 Series:
- ✓ DAD detektor – zdroj světla deuteriová (UV) a wolframová (VIS) lampa, 1024 fotodiod, vlnový rozsah 190 – 950 nm, volitelná šířka štěrby 1 – 16 nm
- ✓ Kolona ZORBAX Eclipse XDB-C18 (2,1 x 150 mm; 3,5 µm)
- ✓ Hmotnostní spektrometr Agilent 6320 Series, Ion Trap LC/MS
- ✓ Infuzní pumpa kdS 9100, kdScientific, USA
- ✓ Vakuová odplyňovací jednotka HP 1100, příkon 30 VA

8.1.3 Software pro zpracování a prezentaci dat

- ✓ Agilent 6300 Series Ion Trap LC/MS Systém Software, Version 6.2 (2008)
- ✓ DataAnalysis for 6300 Series Ion Trap LC/MS Version 4.0, Bruker Daltonics GmbH
- ✓ Microsoft® Word 2003
- ✓ Microsoft® Excel 2003

8.2 Chemikálie, spotřební materiál a standardy

8.2.1 Rozpouštědla

- ✓ Methanol Chromasolv®, obsah 99,9% pro HPLC, Sigma-Aldrich, Německo

8.2.2 Chemikálie a jiné materiály

- ✓ Běžné dostupné chemikálie ve stopové analytické laboratoři
- ✓ Kyselina octová, Lach - Ner, s.r.o., Neratovice, Česká Republika

8.2.3 Použité SPE extrakční kolony

- ✓ Oasis® HLB Cartrige, Waters, USA
- ✓ SUPELLEAN™, ENVI™ - 18 SPE Tube, Supelco Německo

8.2.4 Technické plyny

- ✓ Dusík 4,6; Linde technoplyn a.s.
- ✓ Helium 5,0; Linde technoplyn a.s.

8.2.5 Použité standardy

- ✓ Standard Perfluorooktanová kyselina (PFOA), roztok v methanolu, 50 µg/ml, Wellington Laboratories, Kanada

- ✓ Standard Perfluorooktansulfonát (PFOS), roztok v methanolu, 50 µg/ml, Wellington Laboratories, Kanada
- ✓ Standard Perfluorooktansulfonamid (FOSA), roztok v methanolu, 50 µg/ml, Wellington Laboratories, Kanada

8.2.6 Studovaná matrice

- ✓ Půdy z požáříšť

8.3 Princip metody

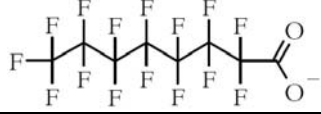
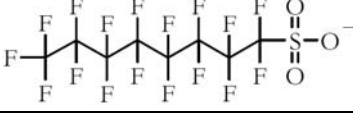
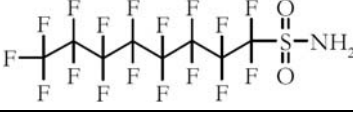
Analyty byly extrahovány ze vzorků půdy za použití sonikace a dále přečištěny pomocí SPE na kolonkách Oasis[®] HLB Cartridge a ENVI[™] - 18 SPE Tube. Pro získání optimálního extrakčního postupu byly použity různé poměry MeOH a také byly vyzkoušeny odlišné pracovní postupy. Použití další extrakční techniky, například zrychlené extrakce rozpouštědlem nebylo možné, s ohledem na zvolené rozpouštědlo (30% MeOH). Vysoký obsah vody v rozpouštědle by mohl způsobit korozi částí přístroje PSE.

K identifikaci a kvantifikaci jednotlivých analytů byla použita vysokoúčinná kapalinová chromatografie s hmotnostním spektrometrem (HPLC/MS; obrázek č. 12 a 13). Separace všech extraktů byla provedena za podmínek izokratické eluce v systému s obrácenými fázemi na koloně Zorbax Eclipse XDB-C18 (2,1 x 150 mm; 3,5 µm). Celková doba jedné analýzy byla 22 minut a dalších 11 minut trvalo vyrovnání tlaku v systému při analýze reálných vzorků (post time).

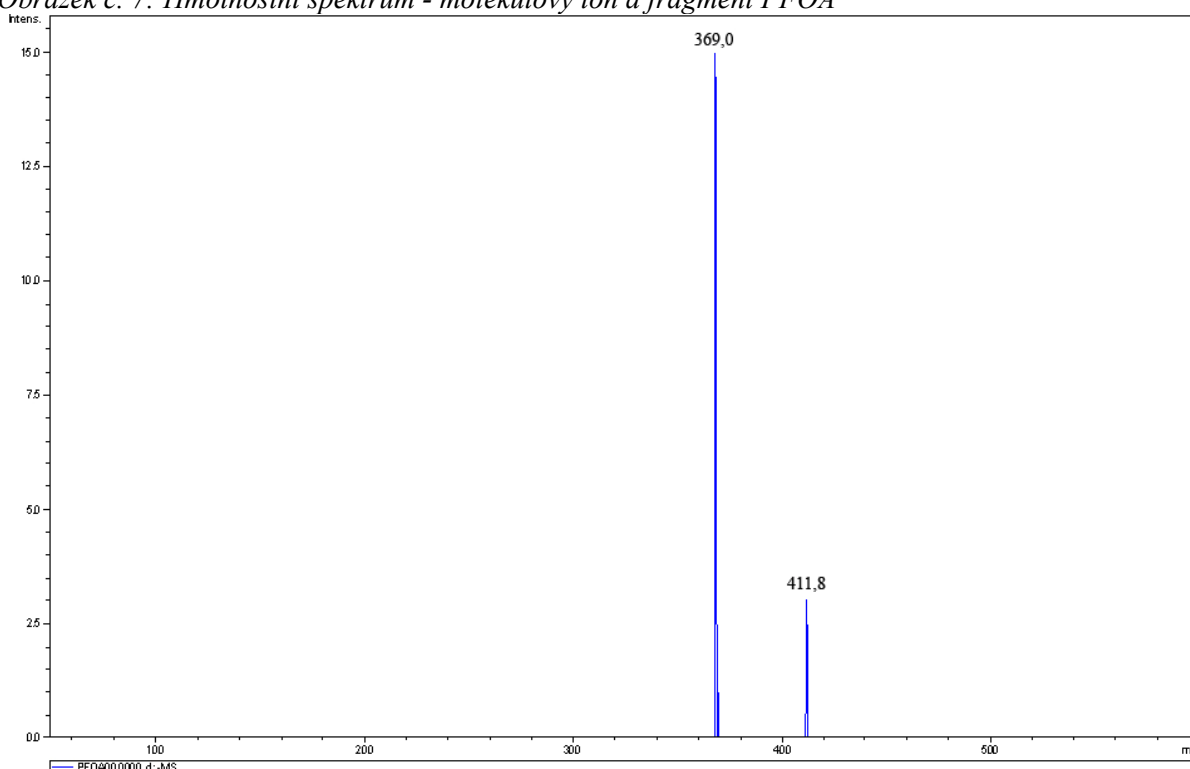
Ionizace v záporném módu byla prováděna pomocí elektrospreje, hmotnostním analyzátozem byla iontová past. Byly sledovány ionty všech vybraných standardů v režimu MS. Měření MS/MS nebylo možné použít, jelikož sledované fragmenty standardů PFOS a FOSA nesplňovaly podmínku pro měření na iontové pasti (pravidlo 70 : 30). Sledované fragmenty byly: PFOS 498,0 > 99; FOSA: 498,9 > 78. U PFOA (414 > 369) docházelo naopak k fragmentaci již v elektrospreji. Tento fragment měl ve spektru větší intenzitu než molekulový ion a z tohoto důvodu byl použit pro kvantifikaci. Změřená hmotnostní spektra, která byla získána přímým nástřikem standardu o koncentraci 1 µg/ml, jsou uvedena na obrázku č. 7, 8, 9.

Hladiny sledovaných kontaminantů (tabulka č. 13) byly vyjádřeny na základě srovnání s individuálními standardy metodou externí kalibrační křivky.

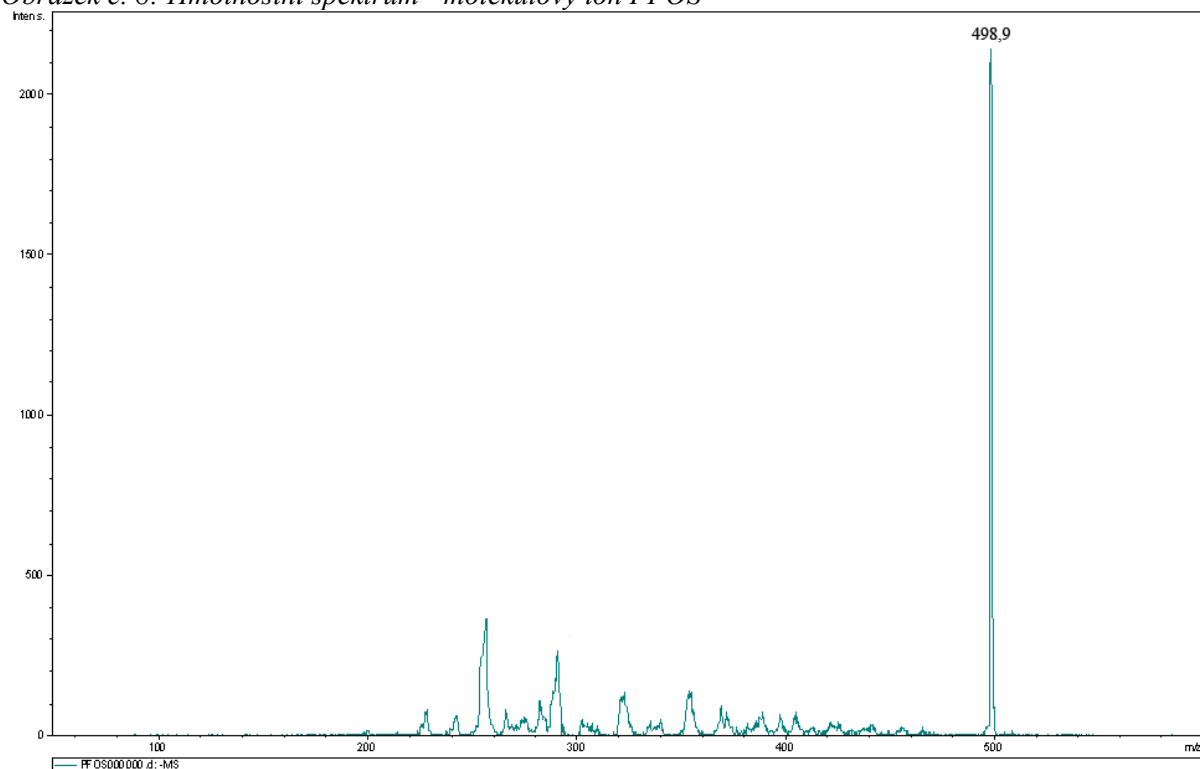
Tabulka č. 13: Přehled sledovaných analytů

Zkratka	Celý název	CAS	Struktura
PFOA	Perfluorooktanová kyselina	335-67-1	
PFOS	Perfluorooktansulfonát	2795-39-3	
FOSA	Perfluorooktansulfonamid	754-91-6	

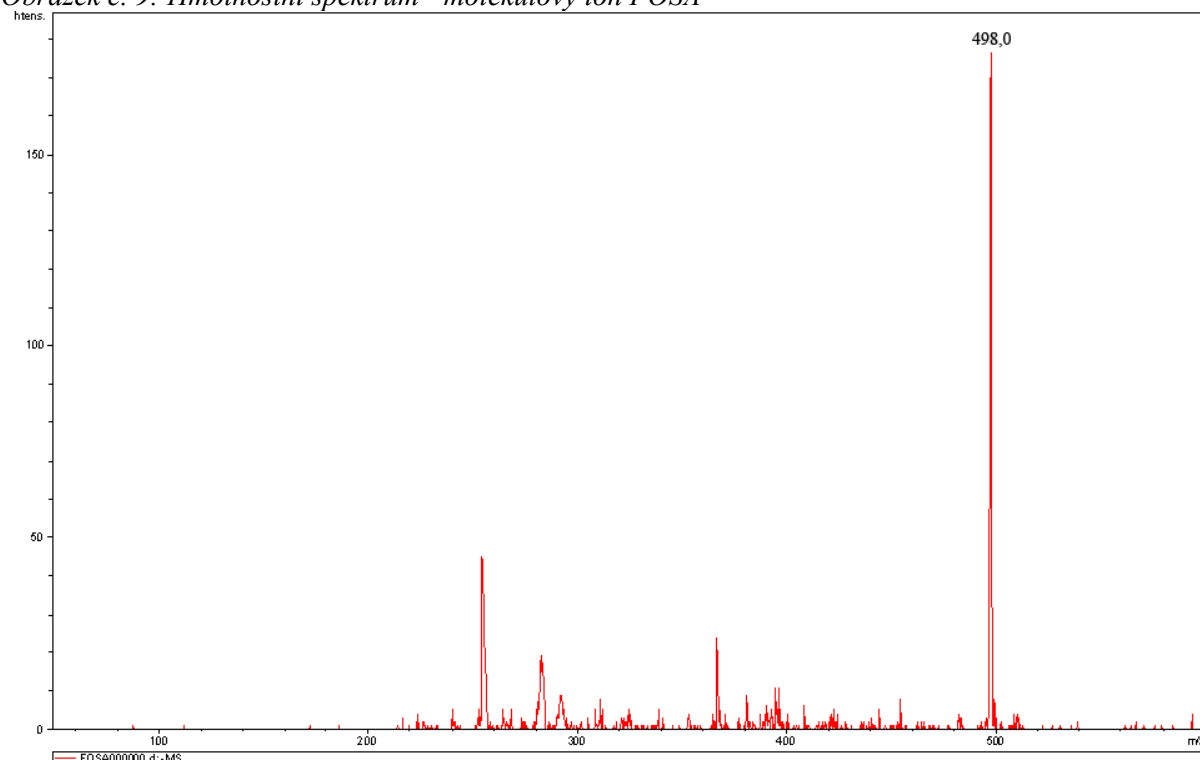
Obrázek č. 7: Hmotnostní spektrum - molekulový ion a fragment PFOA



Obrázek č. 8: Hmotnostní spektrum - molekulový ion PFOS



Obrázek č. 9: Hmotnostní spektrum - molekulový ion FOSA



8.3.1 Pracovní postupy

V textu jsou uvedeny optimalizované pracovní postupy. Další testované postupy lze naléznout v kapitole 9.3.

8.3.1.1 Sonikace

Do 250 ml baněk bylo naváženo 15 g vzorku půdy a přidáno 60 ml organického rozpouštědla (30% MeOH). Směs byla následně extrahována v sonikační lázni po dobu 40 minut. Vzhledem ke složení rozpouštědla nemohl být k filtraci využit bezvodý síran sodný, avšak bylo nutné zfiltrovat extrakt přes skládaný papírový filtr.

Obrázek č. 10: Sonikace

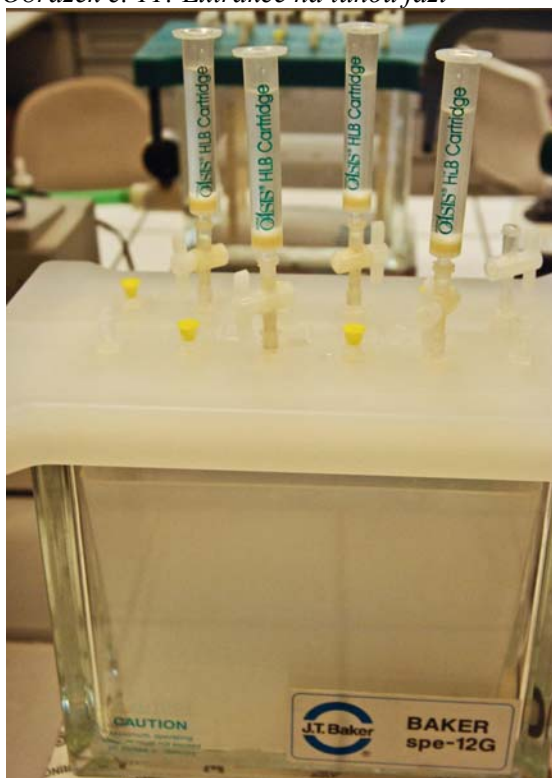


8.3.1.2 Přečištění extraktů

Extrakty z půdy byly přečištěny pomocí SPE na kolonkách Oasis[®] HLB Cartridge.

- ✓ kolona byla promyta 2 ml MeOH
- ✓ následovalo promytí kolony 2 ml 30% MeOH
- ✓ na kolonu bylo nanášeno 60 ml vzorku
- ✓ sušení proudem vzduchu po dobu 15 min
- ✓ eluce probíhala 3 ml MeOH : 1% CH₃COOH (90 : 10)
- ✓ eluát byl odpařen do sucha pod proudem dusíku (40 °C)
- ✓ odparek byl rozpuštěn v 1 ml MeOH

Obrázek č. 11: Extrakce na tuhou fázi



8.3.1.3 Identifikace a kvantifikace analytů

Podmínky chromatografické separace:

- ✓ mobilní fáze: 10 mM octan amonný, methanol
- ✓ nástrík: 3 μ l
- ✓ průtok mobilní fáze: 150 μ l/min
- ✓ teplota kolony: 30 °C
- ✓ vlnová délka: 210 nm, 260 nm
- ✓ délka analýzy: 22 min; post time: 11 min
- ✓ izokraticky: 70% MeOH a 30% $\text{CH}_3\text{COONH}_4$

Parametry hmotnostního spektrometru:

- ✓ sušící plyn: dusík
- ✓ tlak sušícího plynu: 20 psi
- ✓ průtok sušícího plynu: 10 l/min
- ✓ teplota sušícího plynu: 350 °C
- ✓ napětí na kapiláře: 76 nA
- ✓ mód: negativní
- ✓ scan 100 - 600 m/z
- ✓ cílová hmota: 450 m/z

Obrázek č. 12: HPLC/MS



Obrázek č. 13: HPLC/MS



9 VÝSLEDKY A DISKUSE

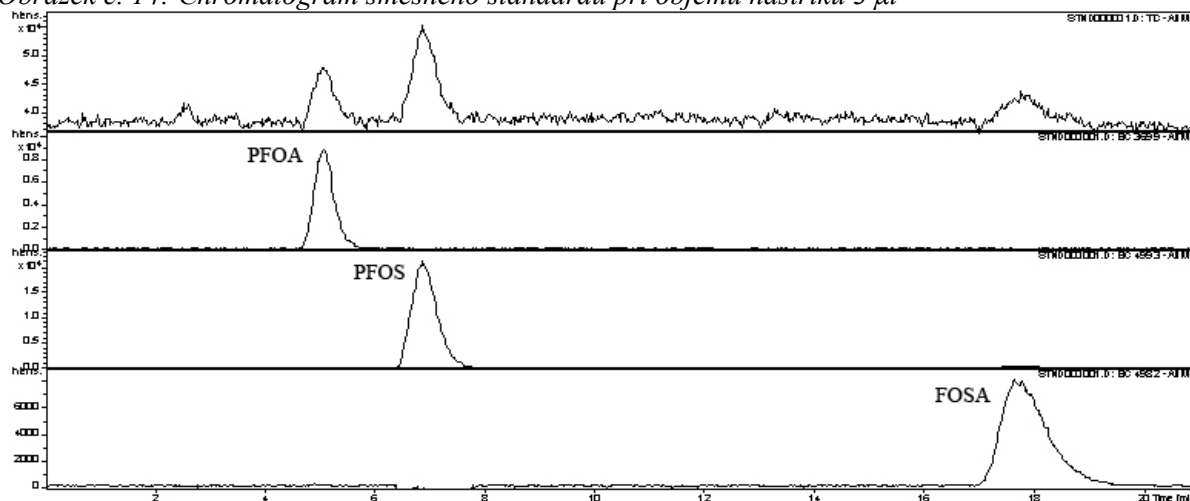
Tato kapitola shrnuje výsledky experimentů na modelových a reálných vzorcích půd.

9.1 Optimalizace chromatografických podmínek

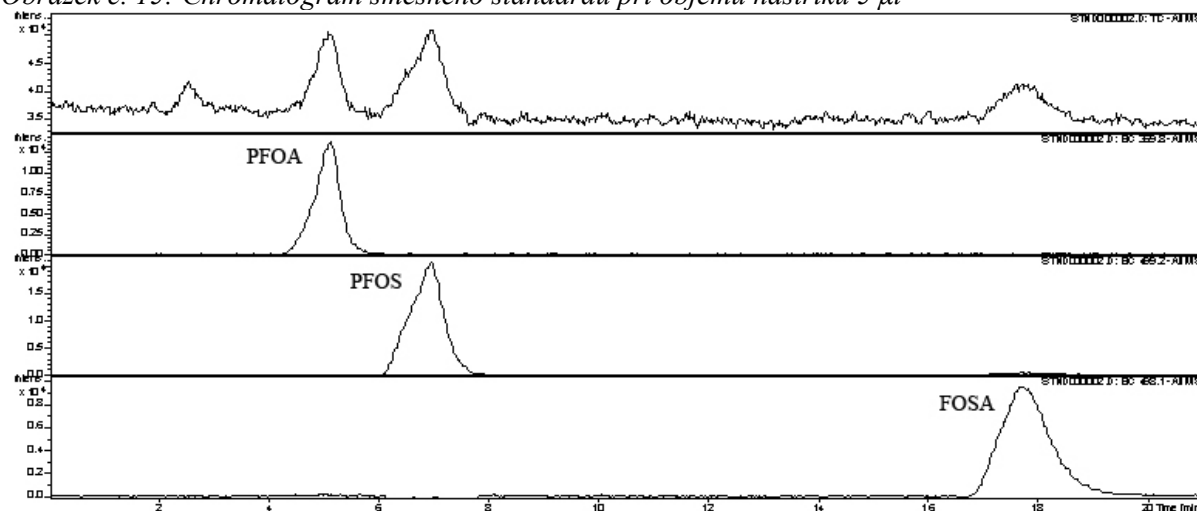
V rámci optimalizace stanovení daných analytů metodou HPLC/MS byly optimalizovány následující parametry: a) objem nástřiku; b) průtok mobilní fáze.

- a) Byl připraven směsný standard vybraných perfluorovaných sloučenin v methanolu o koncentraci 1 $\mu\text{g/ml}$. Jako mobilní fáze byl použit octan amonný a methanol. Průtok mobilní fáze byl 0,150 $\mu\text{l/min}$. Teplota termostatu byla nastavena na 30 °C. Směsný standard byl proměřen při objemu nástřiku 3, 5 a 10 μl (obr. 14, 15, 16). Optimální objem nástřiku směsného standardu na kolonu byl 3 μl , při vyšších objemech došlo již k rozmytí píků eluujících se analytů. Hlavním kritériem optimalizace objemu nástřiku byl tedy tvar chromatografických píků.
- b) Byl připraven směsný standard vybraných perfluorovaných sloučenin v methanolu o koncentraci 0,5 $\mu\text{g/ml}$. Jako mobilní fáze byl použit octan amonný a methanol. Teplota termostatu byla nastavena na 30 °C. Objem nástřiku standardu byl 3 μl . Směsný standard byl proměřen při průtocích mobilní fáze 0,150 $\mu\text{l/min}$ a 0,250 $\mu\text{l/min}$ (obr. 17, 18). Průtok mobilní fáze značně ovlivňuje retenční časy a odezvu analytů. Retenční časy jednotlivých analytů udává tabulka č. 14. Při vyšším průtoku je výrazně kratší retenční čas analytů, avšak dochází k chvostování píků. Jako nejvhodnější se tedy jeví průtok mobilní fáze 0,150 $\mu\text{l/min}$.

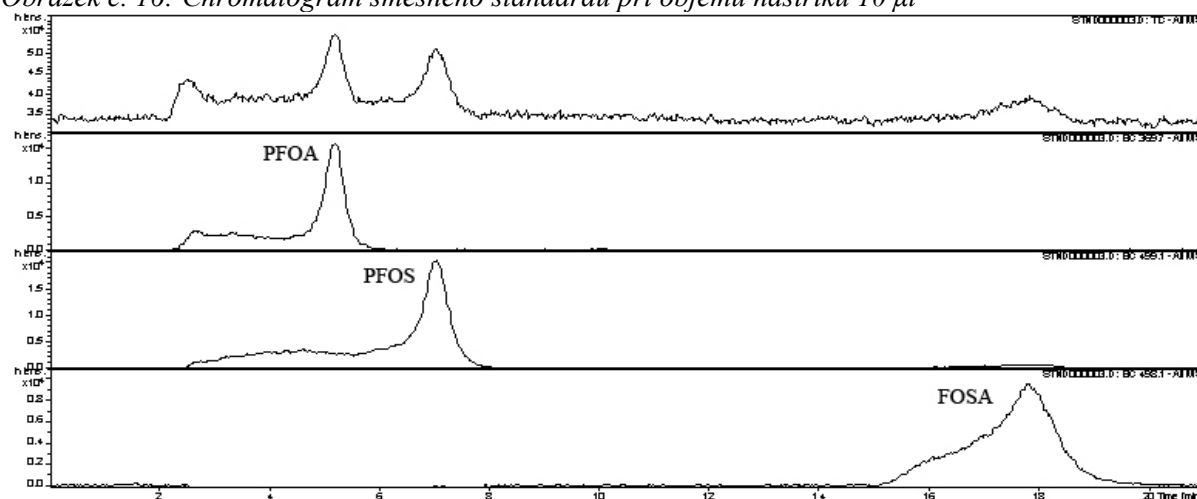
Obrázek č. 14: Chromatogram směsného standardu při objemu nástřiku 3 μl



Obrázek č. 15: Chromatogram směsného standardu při objemu nástriku 5 μ l



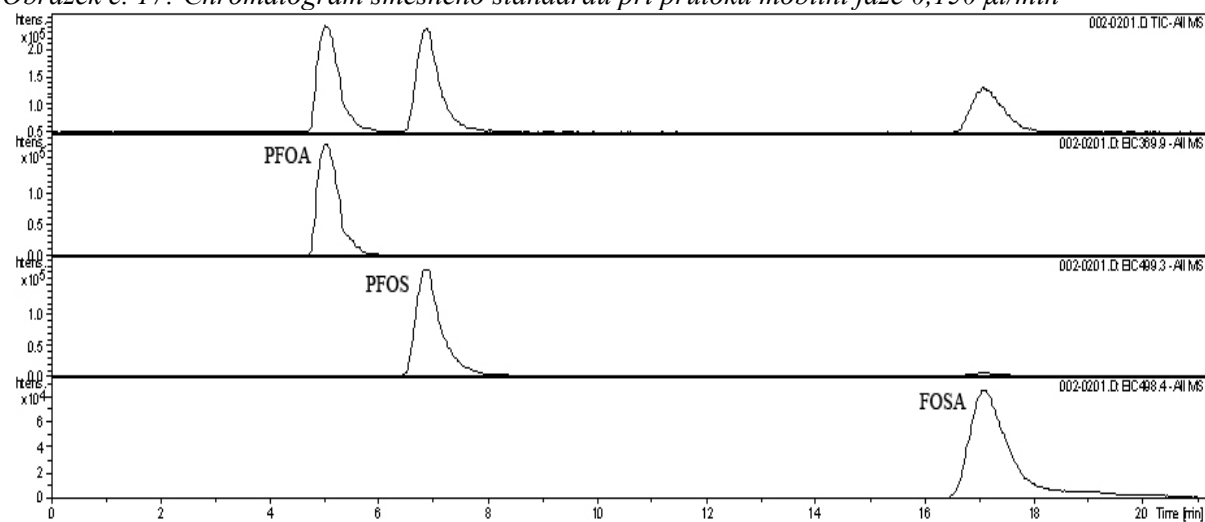
Obrázek č. 16: Chromatogram směsného standardu při objemu nástriku 10 μ l



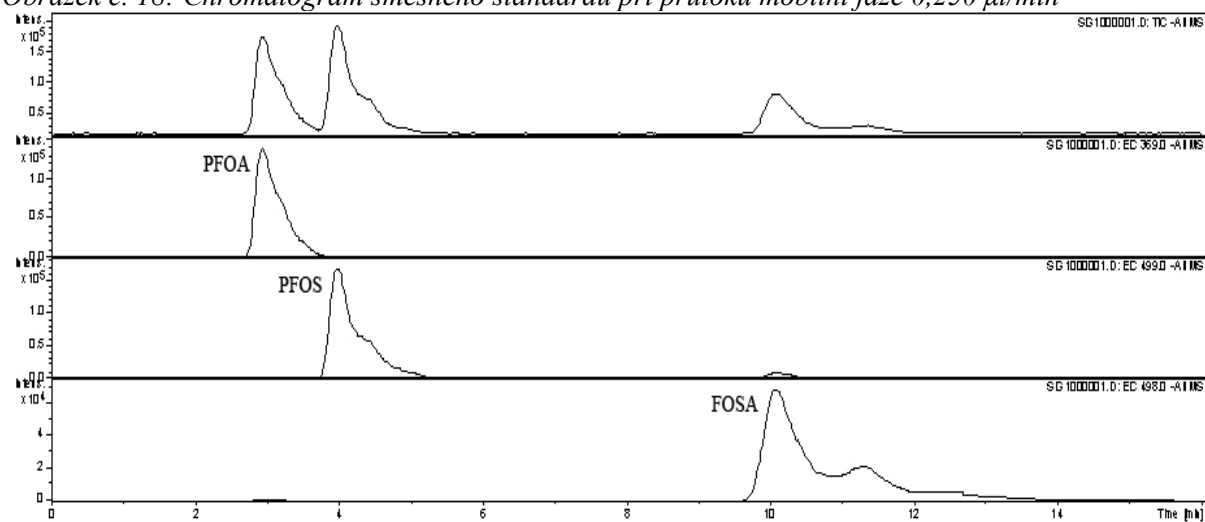
Tabulka č. 14: Retenční časy sledovaných analytů při různých průtocích

Analyt	0,150 μ l/min	0,250 μ l/min
	Retenční čas (min)	Retenční čas (min)
PFOA	5,0	2,9
PFOS	6,9	4,0
FOSA	17,2	10,1

Obrázek č. 17: Chromatogram směsného standardu při průtoku mobilní fáze 0,150 µl/min



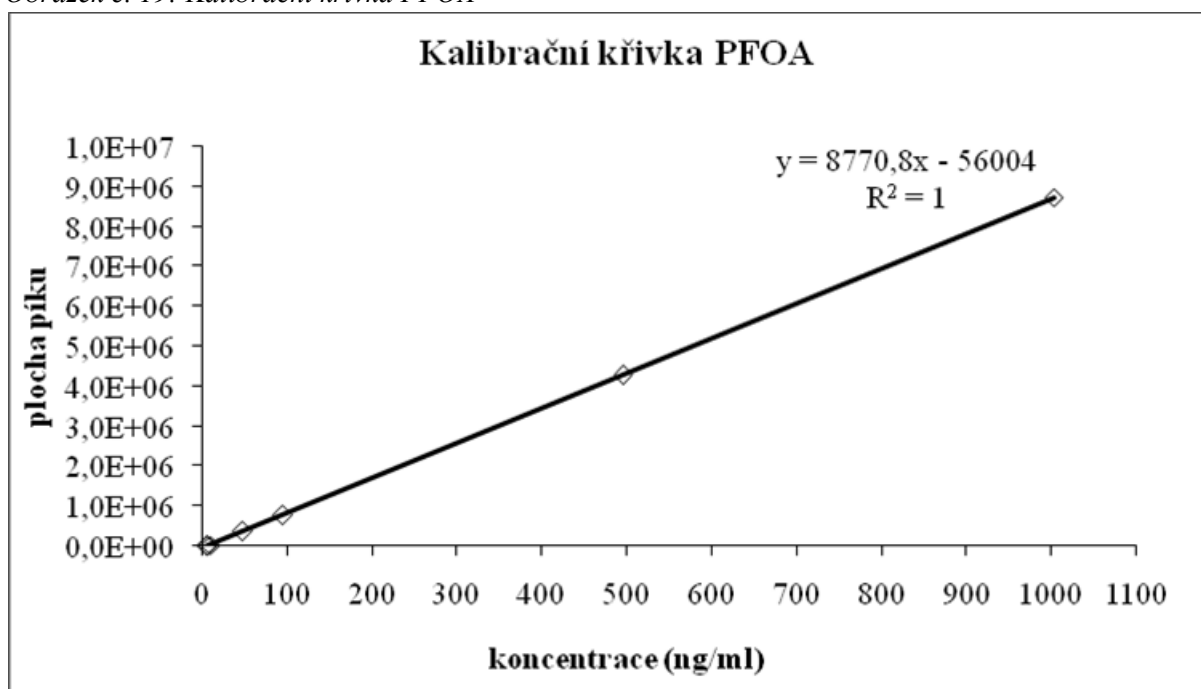
Obrázek č. 18: Chromatogram směsného standardu při průtoku mobilní fáze 0,250 µl/min



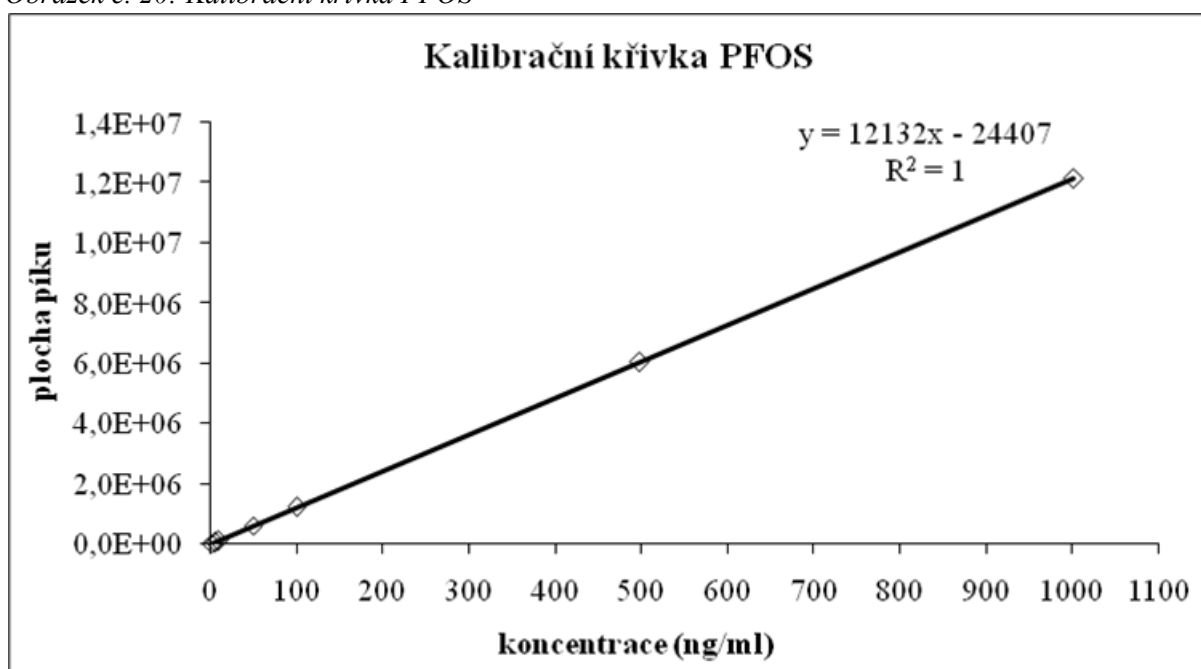
9.2 Kalibrační křivka, mez detekce, mez stanovitelnosti

Za účelem kvantifikace sledovaných analytů byly připraveny směsné standardy o koncentracích 1, 5, 10, 50, 100, 500 a 1000 ng/ml. Kalibrační křivky byly sestaveny jako závislosti plochy píků na koncentraci analytu. Kalibrační křivky jednotlivých analytů jsou uvedeny na obrázcích číslo 19, 20 a 21. Rovnice kalibračních křivek jsou shrnuty do tabulky č. 15.

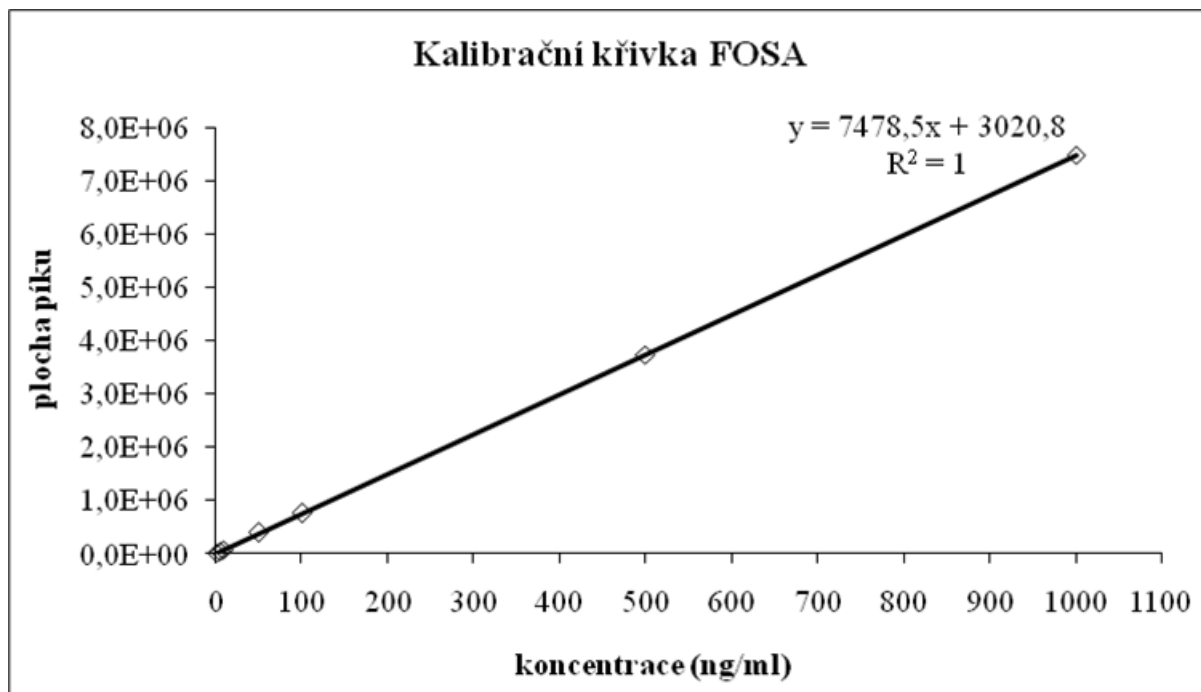
Obrázek č. 19: Kalibrační křivka PFOA



Obrázek č. 20: Kalibrační křivka PFOS



Obrázek č. 21: Kalibrační křivka FOSA



Tabulka č. 15: Rovnice kalibračních křivek

Analyt	Rovnice kalibrační křivky
PFOA	$y = 8770,8x - 56004$
PFOS	$y = 12132x - 24407$
FOSA	$y = 7478,5x + 3020,8$

Mez detekce (LOD) odpovídá koncentraci, pro kterou je analytický signál statisticky významně odlišný od šumu. Mez stanovitelnosti (LOQ) odpovídá koncentraci, při které je přesnost stanovení taková, že dovoluje kvantitativní vyhodnocení. Podle uzance se v separačních metodách mez detekce vyjadřuje jako trojnásobek šumu základní linie a mez stanovitelnosti jako desetinásobek šumu základní linie. Hodnoty LOD a LOQ pro jednotlivé analyty stanovené pomocí HPLC/MS jsou uvedeny v tabulce č. 16.

Příklad výpočtu LOD pro PFOA:

$$LOD = \frac{3 \times h_n}{m} \times c$$

$$LOD = \frac{3 \times 232}{350} \times 1$$

$$LOD = \underline{\underline{1,9886 \text{ ng/ml}}}$$

h_nvýška šumu v reálném vzorku

cnejnižší koncentrace kalibrační řady 1 ng/ml

mvýška píku pro koncentraci 1 ng/ml

Přepočet na kg sušiny (obsah sušiny ve vzorku 99,99 %)
 $1,9886 \times 0,9999 \times 66,67 = \underline{\underline{132,56 \text{ ng / kg sušiny}}}$

Příklad výpočtu LOQ pro PFOA:

$$LOQ = \frac{10 \times h_n}{m} \times c$$

$$LOQ = \frac{10 \times 232}{350} \times 1$$

$$LOQ = \underline{\underline{6,6286 \text{ ng / ml}}}$$

Přepočet na kg sušiny (obsah sušiny ve vzorku 99,99%)
 $6,6286 \times 0,9999 \times 66,67 = \underline{\underline{441,86 \text{ ng / kg sušiny}}}$

Tabulka č. 16: Meze detekce a meze stanovitelnosti pro jednotlivé sloučeniny

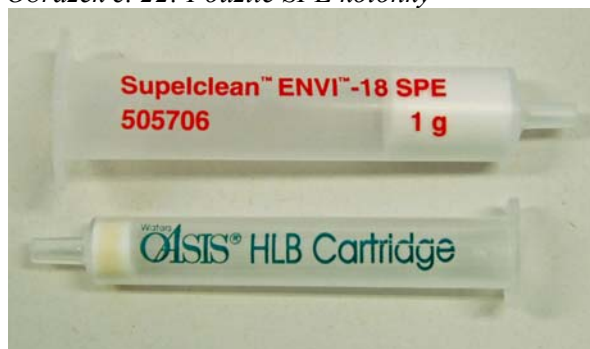
Analyt	Mez detekce (ng/ml)	Přepočet na sušinu		Mez stanovitelnosti (ng/ml)	Přepočet na sušinu	
		ng/kg sušiny	µg/kg sušiny		ng/kg sušiny	µg/kg sušiny
PFOA	1,9886	132,56	0,13	6,6286	441,86	0,44
PFOS	1,6826	112,17	0,11	5,6088	373,88	0,37
FOSA	1,9031	126,86	0,13	6,3438	422,87	0,42

9.3 Optimalizace extrakčního postupu

Byl připraven fortifikovaný vzorek. K 15 g půdy bylo přidáno 10 µl z jednotlivých standardů perfluorovaných sloučenin o koncentraci 50 µg/ml. Dále bylo přidáno 60 ml zvoleného rozpouštědla a vzorek byl podroben extrakci podporované ultrazvukem (viz. kap. 8.3.1.1). Po filtraci následovalo přečištění a zakonzentrování extraktů pomocí SPE podle níže uvedených postupů. Při optimalizaci tohoto preanalytického postupu bylo využito dvou různých SPE kolonek, které se lišily použitou stacionární fází. Jednalo se o kolonky Oasis[®] HLB Cartridge a ENVI[™] - 18 SPE Tube (obrázek č. 22). Kolonka Oasis[®] HLB Cartridge má jako sorbent kopolymer divinylbenzen/N-vinylpyrrolidin, zatímco v kolonce ENVI[™] - 18 je sorbentem polymerně vázaná oktadecylová fáze. Uvedené postupy extrakce na tuhou fázi jsou shodné pro oba dva typy kolonek. Současně byly prováděny i slepé pokusy (blank), ve kterých nebyly prokázány žádné koncentrace sledovaných analytů.

Pro kvantifikaci analytů byla zvolena metoda kalibrační křivky, ze které byly spočítány účinnosti jednotlivých extrakčních postupů. V tabulce č. 17 jsou prezentovány účinnosti použitých extrakčních postupů pro jednotlivé analyty. Grafické zpracování pro jednotlivé typy kolonek je znázorněno na obrázcích č. 23 a 24.

Obrázek č. 22: Použité SPE kolonky



POSTUP č. 1

- ✓ kolona byla promyta 2 ml MeOH
- ✓ následovalo promytí kolony 2 ml MeOH : 1% CH₃COOH (90 : 10)
- ✓ na kolonu bylo naneseno 60 ml vzorku
- ✓ sušení proudem vzduchu po dobu 15 min
- ✓ eluce probíhala 3 ml MeOH
- ✓ eluát byl odpařen do sucha pod proudem dusíku (40 °C)
- ✓ odparek byl rozpuštěn v 1 ml MeOH

POSTUP č. 2

- ✓ kolona byla promyta 2 ml MeOH
- ✓ následovalo promytí kolony 2 ml 30% MeOH (50, 70% MeOH)
- ✓ na kolonu bylo naneseno 60 ml vzorku
- ✓ sušení proudem vzduchu po dobu 15 min
- ✓ eluce probíhala 3 ml MeOH : 1% CH₃COOH (90 : 10)
- ✓ eluát byl odpařen do sucha pod proudem dusíku (40 °C)
- ✓ odparek byl rozpuštěn v 1 ml MeOH

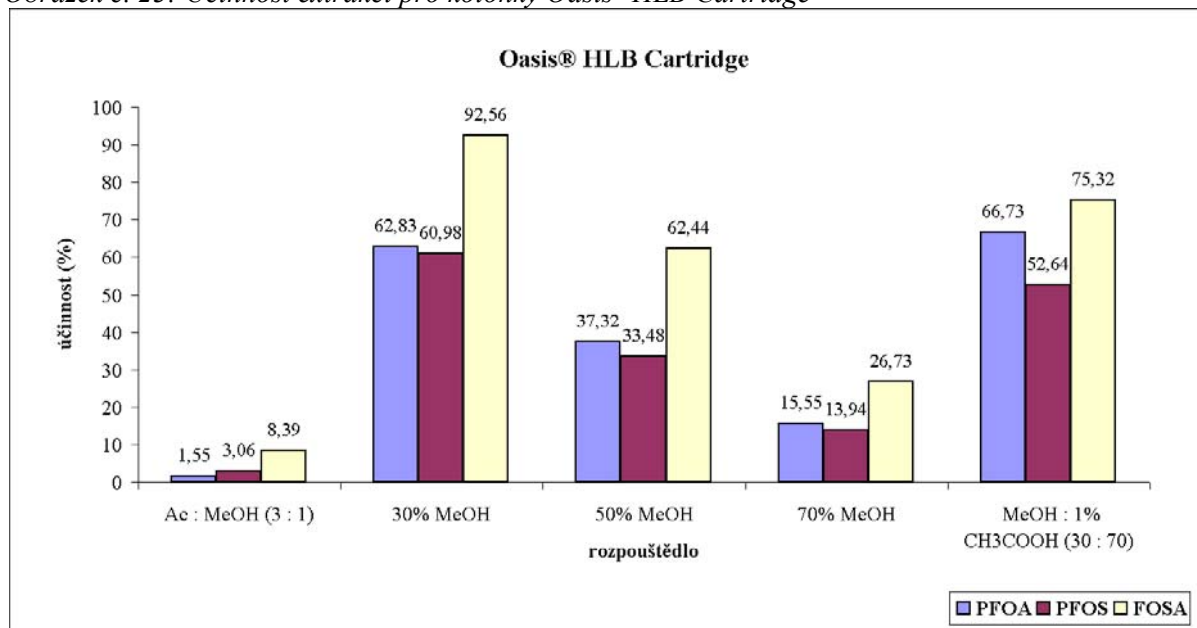
POSTUP č. 3

- ✓ kolona byla promyta 2 ml MeOH
- ✓ následovalo promytí kolony 2 ml MeOH : 1% CH₃COOH (30 : 70)
- ✓ na kolonu bylo naneseno 60 ml vzorku
- ✓ eluce probíhala 3 ml MeOH : 1% CH₃COOH (90 : 10)
- ✓ eluát byl odpařen do sucha pod proudem dusíku (40 °C)
- ✓ odparek byl rozpuštěn v 1 ml MeOH

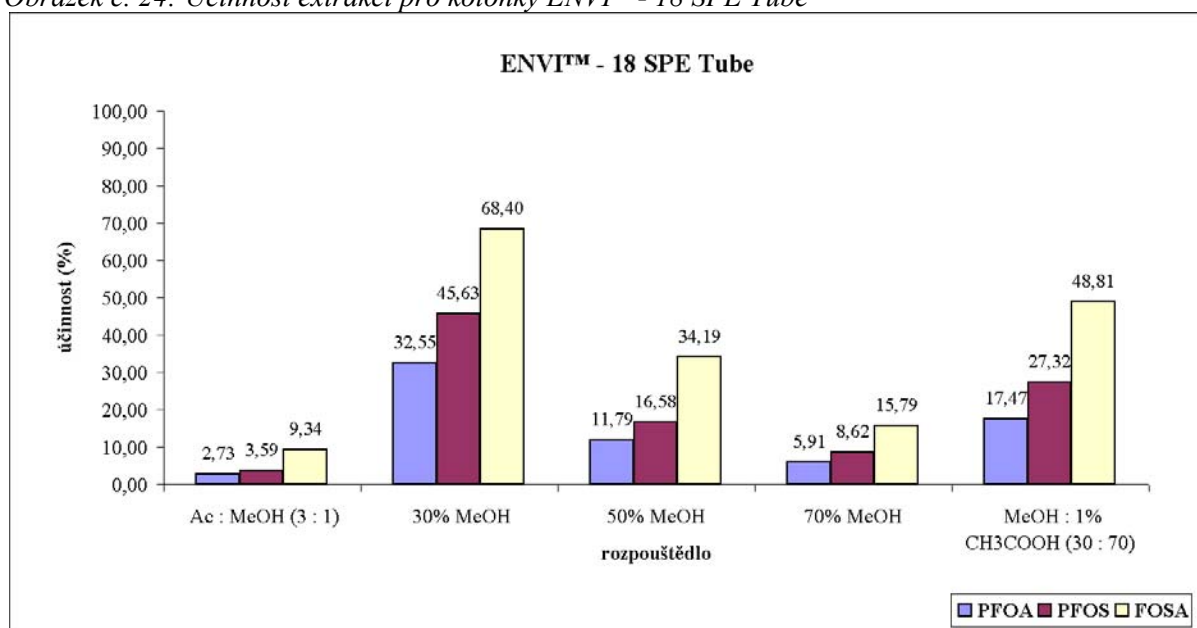
Tabulka č. 17: Účinnosti extrakčních postupů

Analyt	Rozpouštědlo	Kolonka	Postup	Účinnost (%)
PFOA	Ac : MeOH (3 : 1)	Oasis® HLB	č. 1	1,55
PFOS				3,06
FOSA				8,39
PFOA	30% MeOH		č. 2	62,83
PFOS				60,98
FOSA				92,56
PFOA	50% MeOH		č. 2	37,32
PFOS				33,48
FOSA				62,44
PFOA	70% MeOH		č. 2	15,55
PFOS				13,94
FOSA				26,73
PFOA	MeOH : 1% CH ₃ COOH (30 : 70)		č. 3	66,73
PFOS				52,64
FOSA				75,32
PFOA	Ac : MeOH (3 : 1)	ENVI™ - 18	č. 1	2,73
PFOS				3,59
FOSA				9,34
PFOA	30% MeOH		č. 2	32,55
PFOS				45,63
FOSA				68,40
PFOA	50% MeOH		č. 2	11,79
PFOS				16,58
FOSA				34,19
PFOA	70% MeOH		č. 2	5,91
PFOS				8,62
FOSA				15,79
PFOA	MeOH : 1% CH ₃ COOH (30 : 70)		č. 3	17,47
PFOS				27,32
FOSA				48,81

Obrázek č. 23: Účinnost extrakcí pro kolonky Oasis® HLB Cartridge



Obrázek č. 24: Účinnost extrakcí pro kolonky ENVI™ - 18 SPE Tube



Z obrázku číslo 23 je patrné, že nejvyšší účinnosti extrakčního postupu bylo dosaženo na kolonkách Oasis® HLB Cartridge za použití 30% MeOH. V tomto případě byl použit postup SPE extrakce č. 2. Účinnost extrakčního postupu v případě analytu FOSA dokonce přesáhla hodnotu 90 %. V případě kolonek ENVI™ - 18 SPE Tube (obrázek č. 24) bylo dosaženo nejlepších výsledků rovněž za použití 30% MeOH a postupu č.2, avšak v tomto případě byly účinnosti nižší, než v případě Oasis® HLB kolonek. Okyselení rozpouštědla kyselinou octovou nepatrně zvýšilo účinnost extrakce (kolonky Oasis® HLB Cartridge) pro perfluorooktanovou kyselinu, avšak došlo ke snížení účinnosti pro zbylé dva analyty. Z výsledků účinností jednotlivých extrakčních postupů lze konstatovat, že s rostoucí eluční silou rozpouštědla klesala i účinnost extrakčního postupu. Analyty byly zřejmě při vyšší eluční síle rozpouštědla vymývány z kolonek.

Srovnat tento optimalizovaný postup s literaturou nebylo možné, protože podobný postup nebyl v žádné dostupné literatuře nalezen. I když výtěžnosti PFOA a PFOS nepřesáhly hodnotu 90 %, lze tento extrakční postup úspěšně aplikovat. Velkou výhodou tohoto postupu je i nízká spotřeba organického rozpouštědla, konkrétně methanolu.

9.4 Stanovení perfluorovaných sloučenin ve vzorcích půdy

K analýze perfluorovaných sloučenin bylo využito celkem 10 vzorků. Jednalo se o 4 vzorky půdy a 6 vzorků půdy z požářišť, které byly odebrány z 10 různých odběrových lokalit po celé České republice. Přehled odběrových lokalit byl zpracován do tabulky č. 19. V každém odběrovém místě bylo odebráno přibližně 1 kg půdy, která byla následně přepravena v mikrotenových sáčkích do laboratoře ke zpracování. Vzorky byly skladovány a sušeny v laboratoři při laboratorní teplotě. Po vysušení byly vzorky půdy zhomogenizovány v třecí misce a přesítovány přes nerezové síto o velikosti ok 2 mm.

V souladu s normou ISO 11465:1993 bylo provedeno stanovení obsahu sušiny v půdě gravimetrickou metodou [54]. Navážka 1 g půdy byla sušena při teplotě 105 ± 2 °C po dobu 3 – 4 hodin do konstantní hmotnosti. Obsah sušiny je udáván v procentech a výsledky měření jsou vztahovány na 1 kg sušiny.

K úpravě vzorku před analýzou byl použit optimalizovaný pracovní postup uvedený v kapitole 8.3.1. Analýza reálných vzorků byla provedena pomocí HPLC/MS za podmínek uvedených v kapitole 8.3.1.3. Při analýze reálných vzorků pomocí HPLC/MS bylo však nutné upravit gradient mobilní fáze, aby bylo zajištěno dostatečné vymytí nečistot z kolony. Nastavení gradientu je prezentováno v tabulce č. 18.

V tabulce č. 20 jsou uvedeny výsledky stanovení vybraných perfluorovaných sloučenin v reálných vzorcích půdy. Každý vzorek byl připraven třikrát a výsledky jsou vyjádřeny jako průměr ze tří stanovení. Grafické zpracování výsledků stanovení je zobrazeno na obrázku č. 25.

Tabulka č. 18: Nastavení gradientu mobilní fáze při analýze reálných vzorků

Čas (min)	MeOH (%)	CH ₃ COONH ₄ (%)
0,00	70	30
20,00	70	30
20,01	100	0
22,00	100	0

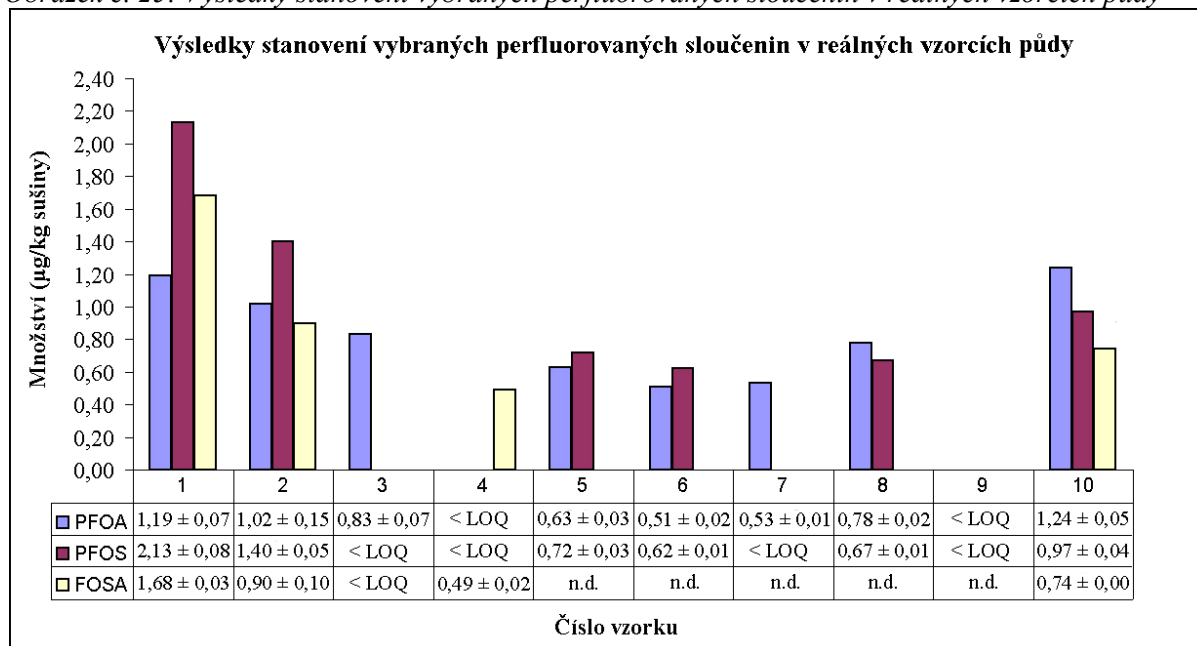
Tabulka č. 19: Přehled odběrových lokalit

Číslo vzorku	Lokalita	Podrobnosti	Obsah sušiny (%)
1	Brno, ulice Nad Pisárkami	půda po požáru nepovolené skládky	99,98
2	Brandýs nad Labem	půda po požáru restaurace	99,99
3	Brandýs nad Labem	půda po požáru panelového domu	99,97
4	Štěpánov nad Svratkou	půda	99,99
5	Brandýs nad Labem	půda po požáru stodoly	99,98
6	Brno, ulice Havránkova	půda po požáru zahradního domku	99,99
7	Brno-Jundrov	půda	99,96
8	Jimramov	půda	99,98
9	Soutok Svratky a Svitavy	půda	99,99
10	Brno-Komárov	půda po požáru autovrakoviště	99,96

Tabulka č. 20: Výsledky stanovení vybraných perfluorovaných sloučenin v reálných vzorcích půdy

Číslo vzorku	Analyt			Jednotka
	PFOA	PFOS	FOSA	
1	1,19 ± 0,07	2,13 ± 0,08	1,68 ± 0,03	µg/kg sušiny
2	1,02 ± 0,15	1,40 ± 0,05	0,90 ± 0,10	
3	0,83 ± 0,07	< LOQ	< LOQ	
4	< LOQ	< LOQ	0,49 ± 0,02	
5	0,63 ± 0,03	0,72 ± 0,03	n.d.	
6	0,51 ± 0,02	0,62 ± 0,01	n.d.	
7	0,53 ± 0,01	< LOQ	n.d.	
8	0,78 ± 0,02	0,67 ± 0,01	n.d.	
9	< LOQ	< LOQ	n.d.	
10	1,24 ± 0,05	0,97 ± 0,04	0,74 ± 0,00	

Obrázek č. 25: Výsledky stanovení vybraných perfluorovaných sloučenin v reálných vzorcích půdy



Z obrázku č. 25 je zřejmé, že nejvyšší koncentrace analytů PFOS a FOSA byly zjištěny ve vzorku č. 1. Tento vzorek byl odebrán v Brně na ulici Nad Pisárkami, po požáru nepovolené skládky. Zvýšené koncentrace všech tří analytů byly prokázány také ve vzorku č. 2 a č. 10. Ve vzorku půdy č. 10 byla nalezena nejvyšší koncentrace analytu PFOA. Vzorek č. 2 byl odebrán v Brandýse nad Labem po požáru restaurace a vzorek č. 10 byl odebrán v Brně-Komárově po velkém požáru autovrakoviště. Ukázky chromatogramů těchto tří vzorků půdy z požářišť jsou prezentovány na obrázcích č. 26, 27 a 28.

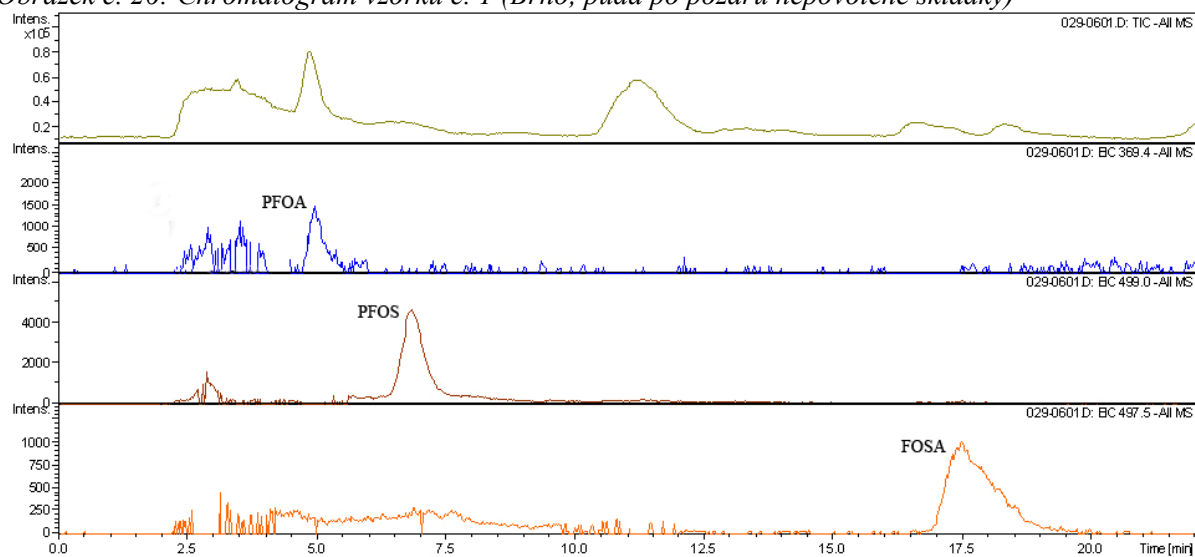
Menší množství PFOA a PFOS bylo detekováno také ve vzorcích č. 5, 6 a č. 8 (podrobnosti viz. tabulka č. 19), kde však nebyl identifikován analyt FOSA. Hladiny perfluorooktanové kyseliny byly prokázány ve vzorku půdy č. 3 po požáru panelového domu v Brandýse nad Labem a ve vzorku půdy č. 7 z Brna-Jundrova. Ve vzorku č. 3 byly změřené koncentrace PFOA a PFOS pod mezí stanovitelnosti. Ve vzorku č. 7 byl PFOS pod mezí stanovitelnosti a analyt FOSA nebyl detekován. Ve vzorku půdy č. 4 byla prokázána zvýšená hladina analytu FOSA, ostatní dva analyty byly pod mezí stanovitelnosti.

Ve vzorku půdy č. 9 ze soutoku Svatky a Svitavy byly hladiny PFOA a PFOS pod mezí stanovitelnosti a FOSA nebyl detekován.

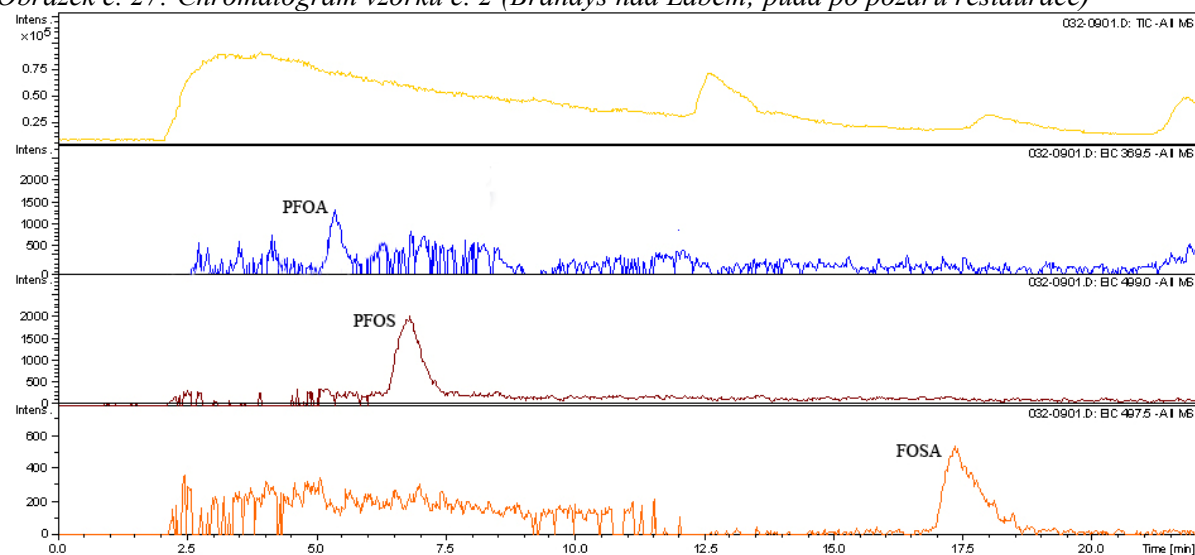
Na podkladě získaných výsledků lze konstatovat, že kontaminace půdy odebrané z blízkosti požářišť je zvýšená. Perfluorované sloučeniny se využívají v řadě průmyslových aplikacích, a proto je možné, že se v prostředí restaurace, nepovolené skládky a vrakoviště vyskytovaly různé hořlaviny, či dokonce předměty, které přišly do kontaktu s těmito sloučeninami. Dalším vysvětlením zvýšené koncentrace sledovaných analytů ve vzorcích půdy je ta skutečnost, že při hašení požáru mohly být použity hasící pěny s obsahem perfluorovaných sloučenin.

Zvýšené hladiny sledovaných kontaminantů byly nalezeny i ve vzorcích půdy, které nepocházely z požářišť. Toto zjištění však jen potvrzuje nebezpečnost perfluorovaných sloučenin, které by se měly postupně eliminovat a nahrazovat jinými látkami, které jsou lépe odbouratelné a nemají škodlivý vliv na životní prostředí.

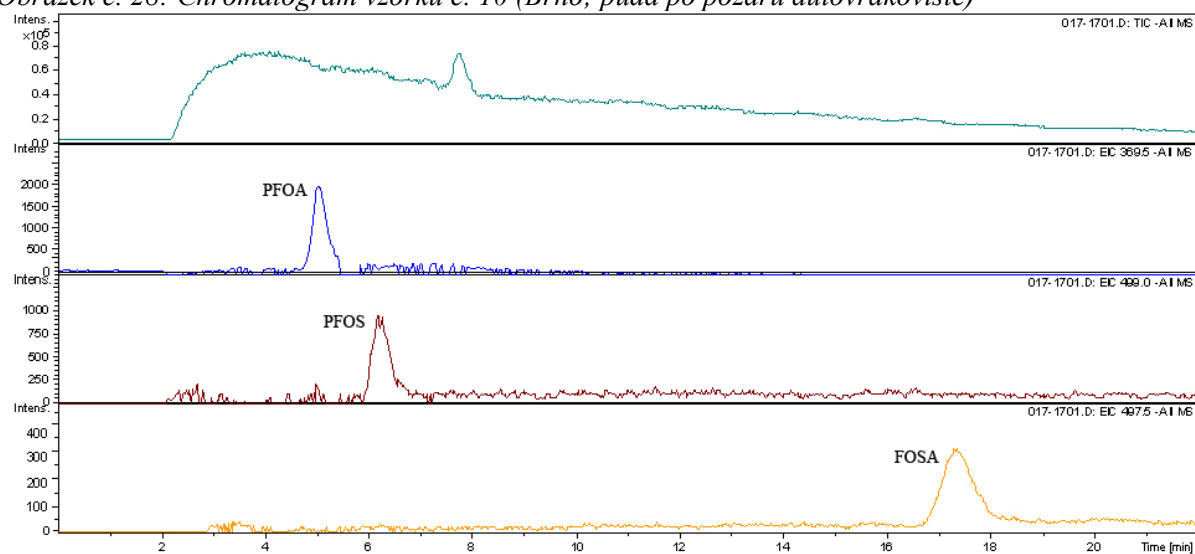
Obrázek č. 26: Chromatogram vzorku č. 1 (Brno, půda po požáru nepovolené skládky)



Obrázek č. 27: Chromatogram vzorku č. 2 (Brandýs nad Labem; půda po požáru restaurace)



Obrázek č. 28: Chromatogram vzorku č. 10 (Brno; půda po požáru autovrakoviště)



10 ZÁVĚR

Skupina perfluorovaných sloučenin zařazených do skupiny POPs zahrnuje několik set sloučenin, rozdělených podle struktury do 23 kategorií. Mezi nejvíce sledované zástupce perfluorovaných sloučenin patří perfluorooktansulfonát (PFOS), kyselina perfluorooktanová (PFOA) a perfluorooktansulfonamid (FOSA). Do životního prostředí pronikají tyto látky zejména při degradaci příbuzných perfluorovaných sloučenin používaných při výrobě polovodičů, dále jako aditiva do hasicích pěn a do hydraulických kapalin a látky používané ve fotografickém průmyslu. PFOS a jemu příbuzné sloučeniny byly používány na ochranu textilií, oděvů, nábytku, čalounění, koberců a výrobků z kůže, a to proti znečištění. Uvedená využití souvisí s unikátními vlastnostmi perfluorovaných substancí, které se promítají do schopnosti těchto látek modifikovat vlastnosti povrchů materiálů a poskytovat jim tak odolnost proti vodě, olejovitým látkám a znečištění. Vlastnosti, pro které jsou tak užitečné ve výše zmíněných aplikacích, jsou zároveň důvodem, proč jsou tyto látky tak nebezpečné pro životní prostředí. Na základě nedávno realizovaných studií, týkajících se výskytu PFOS a PFOA bylo potvrzeno, že se jedná o globální kontaminanty, a to jak abiotické, tak i biotické složky prostředí, včetně člověka.

Značná část diplomové práce byla směřována do teoretické oblasti, protože perfluorované sloučeniny patří mezi „relativně novou“ skupinu organických polutantů a tyto polutanty nejsou dosud komplexně popsány. Na základě údajů dostupných z literatury byla v teoretické části diplomové práce popsána historie jejich používání, fyzikálně-chemické vlastnosti, výroba, zdroje, výskyt a osud perfluorovaných sloučenin v životním prostředí. Zvýšená pozornost byla věnována také analytické chemii a toxikologii perfluorovaných sloučenin.

V experimentální části byla vypracována a optimalizována metoda, které byla použita pro identifikaci a kvantifikaci PFOA, PFOS a FOSA, obsažených v reálných vzorcích půdy. Analyty byly extrahovány z půdy za použití sonikace a dále přečištěny pomocí SPE na kolonkách Oasis® HLB Cartridge. Nejvyšší účinnosti extrakčního postupu bylo dosaženo s využitím 30% MeOH jako rozpouštědla. Identifikace a kvantifikace jednotlivých analytů byla provedena za pomoci vysokoúčinné kapalinové chromatografie s hmotnostní detekcí. Hladiny sledovaných kontaminantů byly vyjádřeny na základě srovnání s individuálními standardy metodou externí kalibrační křivky. V reálných vzorcích půdy odebraných z blízkosti požářišť byly detekovány zvýšené hladiny sledovaných kontaminantů.

Legislativní předpisy limitující používání perfluorovaných látek a limity pro výši jejich hladin ve složkách životního prostředí zatím neexistují. Tyto organohalogenované sloučeniny však nelze brát na lehkou váhu, a to především vzhledem ke zjištěným hladinám PFOS ve tkáních zvířat pocházejících z arktických oblastí.

Byl bych rád, aby předložená diplomová práce přispěla k rozšíření dosud publikovaných poznatků o perfluorovaných sloučeninách: Optimalizovaná metoda by mohla, a to na základě výsledků analýz reálných vzorků, posloužit jako návod pro identifikaci a kvantifikaci analytů PFOA, PFOS a FOSA ve vzorcích půdy.

SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

- [1] HEKSTER, F.M., VOOGT, De P. Perfluoroalkylated substances – Aquatic enviromental assesment, 2002.
- [2] KOCOUREK, V., HAJŠLOVÁ, J.. Přehled aktuálních problémů v oblasti chemické bezpečnosti potravin. *VVF-03-07* [online]. 2007, č. 3 [cit. 2009-02-22]. Dostupný z WWW: <http://www.phytosanitary.org/projekty/2007/VVF_03_2007.pdf>.
- [3] PULKRABOVÁ, J. et al Perfluoroalkylované sloučeniny : nové kontaminanty životního prostředí. [online]. Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2010 [cit. 2010-12-06]. Dostupné z WWW: <<http://www.odpadoveforum.cz/OF2010/dokumenty/prispevky/040.pdf>>.
- [4] HOFF, P.T., et al. Perfluorooctane sulfonic acid and organohalogen pollutants in liver of three freshwater fish species in Flanders (Belgium): relationships with biochemical and organismal effects. *Environ. Pollut.* 2005, no. 137, ISSN 324-333.
- [5] Perfluorochemical releases at the 3M - Cottage Grove facility. *Health consultation*, 2005
- [6] OLSEN, Geary W., et al. Historical Comparison of Perfluorooctanesulfonate, Perfluorooctanoate, and Other Fluorochemicals in Human Blood. *Environmental Health Perspectives.* 2005, vol. 113, no. 5, s. 539-545.
- [7] KANNAN, Kurunthachalam, et al. Perfluorooctanesulfonate and Related Fluorochemicals in Human Blood from Several Countries. *Environ. Sci. Technol.* 2004, vol. 38, is. 17, s. 4489-4495.
- [8] TANIYASU, Sachi, et al. A Survey of Perfluorooctane Sulfonate and Related Perfluorinated Organic Compounds in Water, Fish, Birds, and Humans from Japan. *Environ. Sci. Technol.* 2003, vol. 37, is. 12, s. 2634-2639.
- [9] Perfluorooctanoic acid: Physiochemical Properties and Enviromental Fate Data. *3M*, 2003
- [10] MARTIN, Jonathan W, et al. Identification of Long-Chain Perfluorinated Acids in Biota from the Canadian Arctic. *Environ. Sci. Technol.* 2004, vol. 38, is. 2, s. 373-380.
- [11] MOODY , Cheryl A., FIELD, Jennifer A. Perfluorinated Surfactants and the Environmental Implications of Their Use in Fire-Fighting Foams. *Environ. Sci. Technol.* 2000, vol. 34, no. 18, s. 3864-3870.
- [12] HÁJKOVÁ, K., TOMANIOVÁ, M., HAJŠLOVÁ, J. Perfluorované perzistentní kontaminanty v potravních řetězcích, 2004.
- [13] ŠUTA, Miroslav. Co skrývá popcorn, větrovka i lidský plod?. *Suta.blog.respekt.cz* [online]. 2009 [cit. 2009-04-06].

- [14] MOODY, A. Cheryl, FIELD, A. Jennifer. Determination of Perfluorocarboxylates in Groundwater Impacted by Fire-Fighting Activity. *Environmental Science & Technology*. 1999, vol. 33, no. 16, s. 2800-2806.
- [15] LEHMLER, Hans-Joachim. Synthesis of environmentally relevant fluorinated surfactants—a review. *Chemosphere*. 2005, no. 58, s. 1471-1496.
- [16] STOCK, N. L., et al. Polyfluorinated Telomer Alcohols and Sulfonamides in the North American Troposphere. *Environ. Sci. Technol.* 2004, vol. 38, is. 4, s. 991-996.
- [17] Dossier prepared in support for a nomination of PFOS to the UN-ECE LRTAP Protocol and the Stockholm Convention. *Swedish Chemicals Inspectorate (KemI) and the Swedish EPA*, 2004.
- [18] 3M: Sulfonated perfluorochemicals in the Environment: Sources, disperzion, fate and effects, St Paul, Minnesota, USA, 2000.
- [19] HAUKAS, M., et al. Bioaccumulation of per- and polyfluorinated alkyl substances (PFAS) in selected species from the Barents Sea food web. *Environmental Pollution*. 2007, vol. 148, s. 360-371.
- [20] GIESY, J. P., KANNAN, K. Global Distribution of Perfluorooctane Sulfonate in Wildlife. *Environ. Sci. Technol.* 2001, vol. 35, s. 1339-1342.
- [21] VOOGT, De P. Discharge of the chemicals in surface. *PERFORCE : SCIENTIFIC REPORT*. 2004, Contract no. 508967.
- [22] KÄRRMAN, A., et al. Perfluorinated chemicals in relation to other persistent organic pollutants in human blood. *Chemosphere*. 2006, no. 64, s. 1582-1591.
- [23] Perfluorooctane Sulphonate: Risk Reduction Strategy and Analysis of Advantages and Drawbacks, RPA in association with BRE Envoroment. *UK Stage 4 Final Report*, 2004.
- [24] XIAOLI, Z., et al. Determination of perfluorinated compounds in wastewater and river water samples by mixed hemimicelle-based solid-phase extraction before liquid chromatography–electrospray tandem mass spectrometry detection. *Journal of Chromatography A*. 2007, vol. 1154, s. 52-59.
- [25] HARADA, K., et al. Historical and geographical aspects of the increasing perfluorooctanoate and perfluorooctane sulfonate contamination in human serum in Japan. *Chemosphere*. 2007, vol. 66, s. 293-301.
- [26] KISHIKAWA, N., KURODA, N. Evaluation of Organic Enviromental Pollutants Detected in Human Milk. *Journal of Health Science*. 2009, vol. 55, is. 1, s. 1-10.

- [27] OLSEN, G. W., et al. Perfluorooctanesulfonate and Other Fluorochemicals in the Serum of American Red Cross Adult Blood Donors. *Environmental Health Perspectives*. 2003, vol. 111, no. 16, s. 1892-1901.
- [28] Chain of Contamination: The Food Link : PERFLUORINATED CHEMICALS (PFCs) (INCL. PFOS & PFOA). *Detox campaign: Factsheet*, s. 1-10.
- [29] GIESY, J. P., KANNAN, K. Global distribution and bioaccumulation of perfluorinated hydrocarbons.. *Organohalogen Compounds*. 2002, vol. 59, s. 267-270.
- [30] KANNAN, K., et al. Perfluorooctanesulfonate and related fluorinated hydrocarbons in marine mammals, fishes and birds from coasts of the Baltic and the Mediterranean seas.. *Environ. Sci. Technol.* 2002, vol. 36, is., s. 3210-3216.
- [31] KEY, B.D., et al. Fluorinated organics in the biosphere. *Environ. Sci. Technol.* 1997, vol. 31, is. 9, s. 2445-2454.
- [32] HEKSTER, F. M., REMI, W.P.M. Laane, VOOGT, De P. Environmental and Toxicity Effects of Perfluoroalkylated Substances. *Rev Environ Contam Toxicol*. 2003, vol. 179, s. 99-121.
- [33] BUTENHOFF, J., et al. Toxicity of Ammonium Perfluorooctanoate in Male Cynomolgus Monkeys after Oral Dosing for 6 Months. *TOXICOLOGICAL SCIENCES*. 2002, vol. 69, s. 244-257.
- [34] GIESY, J. P., KANNAN, K.. Accumulation of perfluorooctane-sulfonate and related fluorochemicals in fish tissues. Prepared for 3M, St.Paul, Minnesota, 2001. In US EPA Administrative Record, s. AR226-1030A.
- [35] GIESY, J. P., KANNAN, K. Perfluorooctane-sulfonate and related fluorochemicals in fish-eating waters. Prepared for 3M, St.Paul, Minnesota, 2001. In US EPA Administrative Record, s. AR226-1030A.
- [36] GIESY, J. P., KANNAN, K.. Perfluorooctane Accumulation of perfluorooctanesulfonate and related fluorochemicals in mink and river otters. Prepared for 3M, St.Paul, Minnesota, 2001. In US EPA Administrative Record, s. AR226-1030A.
- [37] HEUVEL, J. P., et al. Covalent binding of perfluorinated fatty acids to proteins in the plasma, liver and testes of rats. *Chemico-Biological Interactions*. 1992, vol. 82, s. 317-328.
- [38] OLSEN, G. W., et al. Half-Life of Serum Elimination of Perfluorooctanesulfonate, Perfluorohexanesulfonate, and Perfluorooctanoate in Retired Fluorochemical Production Workers. *Environmental Health Perspectives*.. 2007, vol. 115, no. 9, s. 1298-1305.

- [39] OECD: Co-Operation on Existing Chemicals - Hazard Assessment of Perfluorooctane Sulfonate (PFOS) and its Salts, Environment Directorate Joint Meeting of the Chemicals Committee and the Working Party on Chemicals, Pesticides and Biotechnology, 2002.
- [40] AUSTIN, M. E., et al. Neuroendocrine Effects of Perfluorooctane Sulfonate in Rats. *Environmental Health Perspectives*. 2003, vol. 111, no. 12, s. 1485-1489.
- [41] GILLIAND, F.D., MANDEL, J.S. Mortality among employees of a perfluorooctanoic acid production plant. *J.Occup.Med.* 1993, vol. 35, s. 950-954.
- [42] MALONEY, E.K., WAXMAN, D.J. Trans-activation of PPAR α and PPAR γ by structurally diverse environmental chemicals. *Toxicol.Appl.Pharmacol.* 1999, vol. 161, s. 209-218.
- [43] HEUVEL, J.P. Peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs) and carcinogenesis. *TOXICOLOGICAL SCIENCES*. 1999, vol. 47, s. 1-8.
- [44] US EPA: Revised Draft Hazard Assessment of Perfluorooctanoic acid and its 34salts. 2002, s. 1-107.
- [45] VOOGT, De P., SÁEZ, M.. Analytical chemistry of perfluoroalkylated substances. *Trends in Analytical Chemistry*. 2006, vol. 25, no. 4, s. 326-342.
- [46] VAN LEEUWEN, S. P. J.; de BOER, J.: Extraction and clean-up strategies for the analysis of poly- and perfluoroalkyl substances in environmental and human matrices. *Journal of Chromatography A*. 2007, vol. 1153, pp. 172-185.
- [47] JAHNKE, A., et al. Development and application of a simplified sampling method for volatile polyfluorinated alkyl substances in indoor and environmental air.. *Journal of Chromatography A* [online]. 2007, 1164, 1-2, [cit. 2011-01-20]. s. 1-9. Dostupný z WWW: <<http://www.sciencedirect.com>>.
- [48] JAHNKE, A.; BERGER, U. Trace analysis of per- and polyfluorinated alkyl substances in various matrices—How do current methods perform?. *Journal of Chromatography A* [online]. 2009, 1216, [cit. 2011-01-23]. s. 410–421. Dostupný z WWW: <<http://www.sciencedirect.com>>.
- [49] *Znečištění ovzduší : Global Environmental Assessment Information System* [online]. 2009 [cit. 2011-01-27]. GENASIS. Dostupné z WWW: <<http://www.genasis.cz/temata-znecisteniovz/>>.
- [50] HIGGINS, CHRISTOPHER P., et al. Quantitative Determination of Perfluorochemicals in Sediments and Domestic Sludge. *ENVIRONMENTAL SCIENCE & TECHNOLOGY* [online]. 2005, VOL. 39, NO. 11, [cit. 2011-02-16]. s. 3946-3956. Dostupný z WWW: <<http://pubs.acs.org/>>.

- [51] SCHRODER, H. F.: Determination of fluorinated surfactants and their metabolites in sewage sludge samples by liquid chromatography with mass spectrometry and tandem mass spectrometry after pressurised liquid extraction and separation on fluorine-modified reserved-phase sorbents. *Journal of Chromathography A* 2003, pp. 131-151.
- [52] WASHINGTON, W. J.: Analysis of perfluorinated carboxylic acids in soils: Detection and quantitation issues at low concentrations. *Journal of Chromathography A* 2007, vol. 1154, pp. 11-120.
- [53] HOLČAPEK, M.; JANDERA, P.: Spojení kapalinové chromatografie a hmotnostní spektrometrie (HPLC/MS) *Chem. Listy*, 1998, 92, s. 278 - 286.
- [54] ISO 11465:1993 zavedena v ČSN ISO 11465 Kvalita půdy - Stanovení hmotnostního podílu sušiny a hmotnostní vlhkosti půdy - Gravimetrická metoda (83 6635).

SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ

APFO	Amonná sůl kyseliny perfluoroktanové
BAF	Bioakumulační faktor
BCF	British Coating Federation (Britská federace nátěrových látek)
BFR	Bromované retardátory hoření
ČOV	Čistírna odpadních vod
DDA	Dodecyldimethylammonium
DDE	Dichlordifenyldichlorethen
DDT	Dichlordifenyltrichlorethan
EC ₅₀	Concentration that Causes Effect for 50 % of the Tested Organisms (koncetrace, která je účinná pro 50 % testovaných organismů)
ECD	Detektor elektronového záchytu (Electron Capture Detector)
ECF	Elektrochemická fluorace
EFSA	European Food Safety Authority (Evropský úřad pro bezpečnost potravin)
EL ₅₀	Level that Causes an Effect for 50 % of the Tested Organisms (hladina, která je účinná pro 50 % testovaných organismů)
ES	Elektrosprej (ElectroSpray)
ESI	Ionizace elektrosprejem (ElectroSpray Ionization)
EtOAc	Ethylacetát (Ethyl Acetate)
EU	Evropská unie
GC	Plynová chromatografie (Gas Chromatography)
GFF	Filtr ze skleněných vláken (Glass Fibre Filter)
HDPE	Vysokohustotní polyethylen (High Density Polyethylene)
K _{ow}	Rozdělovací koeficient oktanol-voda
LC	Kapalinová chromatografie (Liquid Chromatography)
LC ₅₀	Concentration that is Lethal for 50 % of the Tested Organisms (koncetrace, při níž zahyne 50 % testovaných organismů)
LD ₅₀	Dosis that is Lethal for 50 % of the Tested Organisms (dávka, při níž zahyne 50 % testovaných organismů)
LLE	Extrakce kapalina-kapalina (Liquid-Liquid <i>Extraction</i>)
LL ₅₀	Level that is Lethal for 50 % of the Tested Organisms (hladina, při které uhynie 50 % testovaných organismů)
LOAEL	Lowest Observed Adverse Effect Level (nejnižší dávka s pozorovatelným nepříznivým účinkem)
LOD	Mez detekce (Limit Of Detection)
LOQ	Mez stanovitelnosti (Limit Of Quantification)
MDA	Minnesota Department of Health
MDL	Detekční limit metody (Method Detection Limit)
MeOH	Methanol
MPCA	Minnesota Pollution Control Agency
MQL	Kvantifikační limit metody (Method Quantification Limit)
MS	Hmotnostní spektrometrie (Mass Spectrometry)
MTBE	Methyl(terc-butyl)ether

NOAEL	No Observed Adverse Effect Level (nejvyšší dávka bez pozorovatelného nepříznivého účinku)
NOEC	No Observed Effect Concentration (koncentrace bez pozorovatelného účinku)
OCP	Organochlorové pesticidy
OECD	Organisation for Economic Cooperation and Development (Organizace pro hospodářskou spolupráci a rozvoj)
PCB	Polychlorované bifenyly
PFAS	Perfluoroalkylované sloučeniny
PFCA	Perfluorokarboxylové kyseliny
PFBS	Perfluorobutansulfonát
PFDS	Perfluorodekansulfonát
PFHxS	Perfluorohexansulfonát
PFOA	Perfluorooktanová kyselina
PFOS	Perfluorooktansulfonát a jeho soli, kyselina perfluorooktansulfonová
PFOSA	Perfluorooktansulfonamid
PFSA	Perfluoroalkylované sulfonáty
PID	Fotoionizační detektor (Photo Ionization Detector)
PLE	Tlaková kapalinová extrakce (Pressurised Liquid Extraction)
POPs	Perzistentní organické polutanty
POSF	Perfluorooktansulfonylfluorid
PP	Polypropylen
PPAR α	Aktivovaný receptor α pro poliferaci peroxisomů
PSE	Vysokotlaká extrakce rozpouštědlem (Pressurized Solvent Extraction)
PTFE	Polytetrafluorethylen
PUF	Polyuretanová pěna (Polyurethane Foam)
SPE	Extrakce na tuhou fázi (Solid Phase Extraction)
SPME	Mikroextrakce na tuhou fázi (Solid Phase Microextraction)
TFE	Tetrafluorethylen
t.hm.	Tělesná hmotnost
USA	Spojené státy americké
US EPA	United States Environmental Protection Agency
UV	Ultraviolet (ultrafialová)
VŠCHT	Vysoká škola chemicko-technologická

PŘÍLOHY

Příloha č.1

Ústav chemie a analýzy potravin, VŠCHT Praha (<http://www.vscht.cz/zkp/>)

Studie: Perfluoroalkylované sloučeniny - nové kontaminanty životního prostředí [3]

Řešitelé: Jana Pulkrabová¹, Petra Hrádková¹, Jan Poustka¹, Jana Hajšlová¹, Monika Tomaniová¹ a Tomáš Randák²,

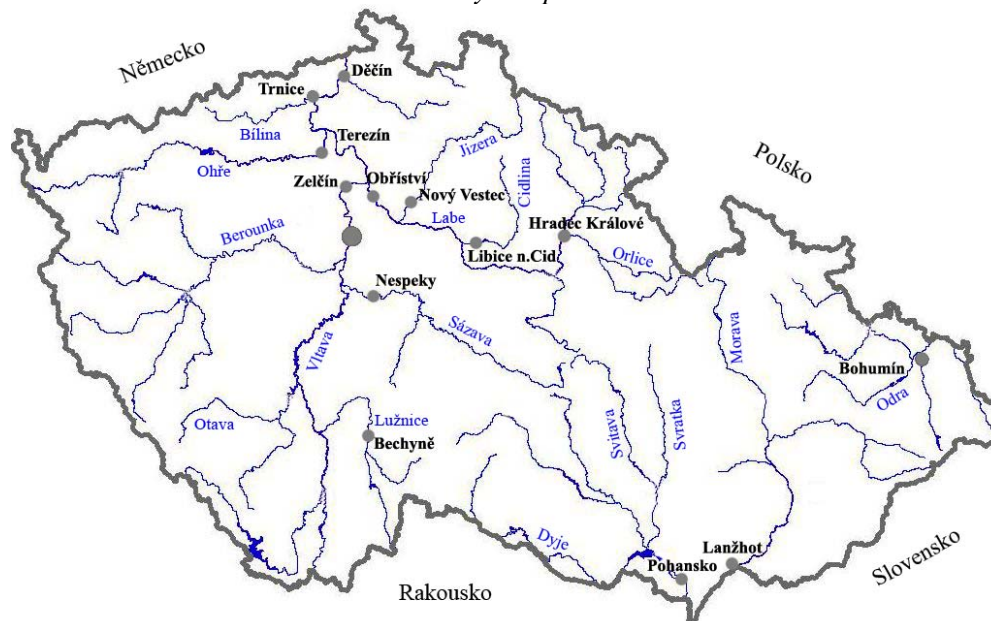
¹ VŠCHT Praha, Ústav chemie a analýzy potravin

² Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický ve Vodňanech

Uvedená prezentace byla zařazena do příloh se souhlasem autorů.

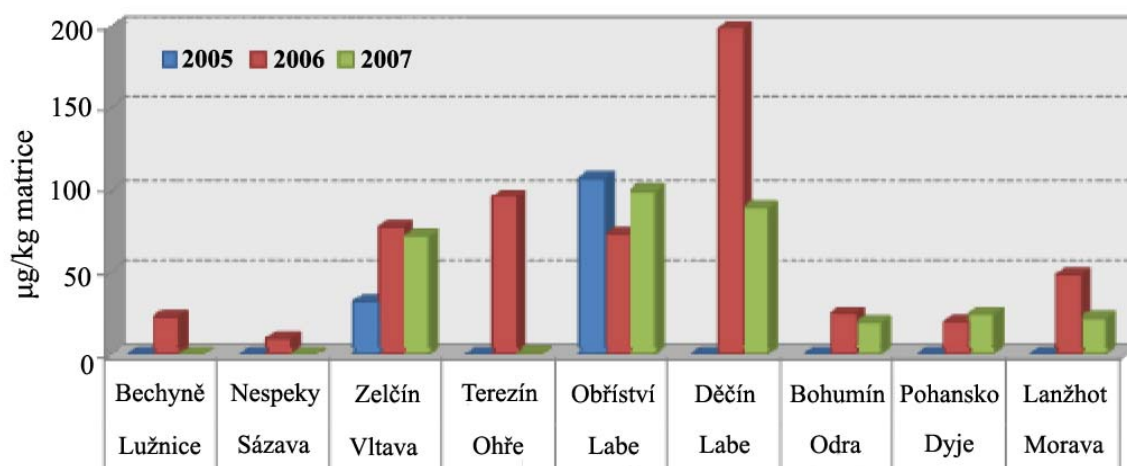
Ve spolupráci s Výzkumným ústavem rybářským a hydrobiologickým ve Vodňanech byly v jednotlivých letech provedeny odběry vzorků jater cejna velkého (*Abramis brama*) a jelce tlouště (*Leuciscus cephalus*) v 18-ti vybraných lokalitách na různých tocích ČR. V prvním roce monitoringu byl proveden screening výskytu perfluorovaných sloučenin ve vodním ekosystému dvou největších českých řek Vltavy a Labe. V letech 2006 a 2007 pak byly vyšetřovány na obsah perfluorovaných sloučenin játra jelce tlouště ve vybraných lokalitách několika českých řek (obrázek č. 29).

Obrázek č. 29: Přehled lokalit sledovaných v průběhu let 2005 – 2007



PFOS byl v játrech jelce tlouště nejčastěji detekovaným polutantem ze skupiny perfluorovaných sloučenin ve sledovaných lokalitách. Hladiny se pohybovaly v rozmezí 10,1 – 198,5 µg/kg matrice. V roce 2006 byla jeho přítomnost prokázána ve 14-ti z celkového počtu 16-ti vyšetřovaných vzorků. V roce 2007 byl potom PFOS nalezen v 9-ti ze 13-ti sledovaných lokalit. Na obrázku č. 30 je zobrazeno porovnání nálezů PFOS ve sledovaných lokalitách.

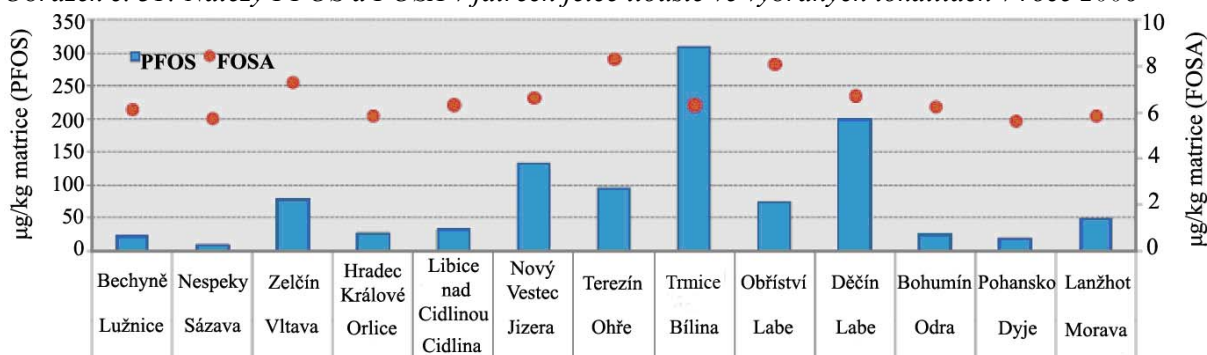
Obrázek č. 30: Nálezy PFOS v játrech jelce tlouště odebraných v průběhu let 2005-2007



Ve dvou lokalitách, Vltava – Zelčín a Labe – Obříství se podařilo realizovat odběr jelce tlouště ve všech třech letech studie. Tyto lokality ležící na dolním a středním toku zmíněných řek patří vedle lokalit Labe – Děčín a Ohře – Terezín mezi nejvíce kontaminované oblasti PFOS. V porovnání s ostatními lokalitami byly výsledky zjištěné v těchto místech až třikrát vyšší. S velkou pravděpodobností se v jejich blízkosti nachází příslušné emisní zdroje.

Při pohledu na celou ČR a na rozmístění kontaminovaných lokalit lze konstatovat, že nejvyšší zátěž byla zaznamenána v oblasti severních Čech. Nelze zatím přesně určit místo původu nebo úniku těchto látek, jelikož se PFAS v ČR nevyráběly ani nevyrábějí. Také množství, které bylo v ČR použito, není přesně známo. PFOA a FOSA byly dalšími sledovanými perfluorovanými kontaminanty. První zmíněná sloučenina nebyla zaznamenána v žádném ze vzorků vyšetřovaných v letech 2005 – 2007. Ve 13-ti ze 16-ti vzorků jelce tlouště byla však prokázána přítomnost FOSA. Mezi jednotlivými lokalitami nebyly zaznamenány výrazné rozdíly. Zjištěné nálezy se pohybovaly mezi 5,6 a 8,1 µg/kg matrice. Obsahy PFOS a FOSA ve sledovaných lokalitách v roce 2006 dokumentuje obrázek č. 31. Nejvíce zatížená je lokalita Bílina – Trmice.

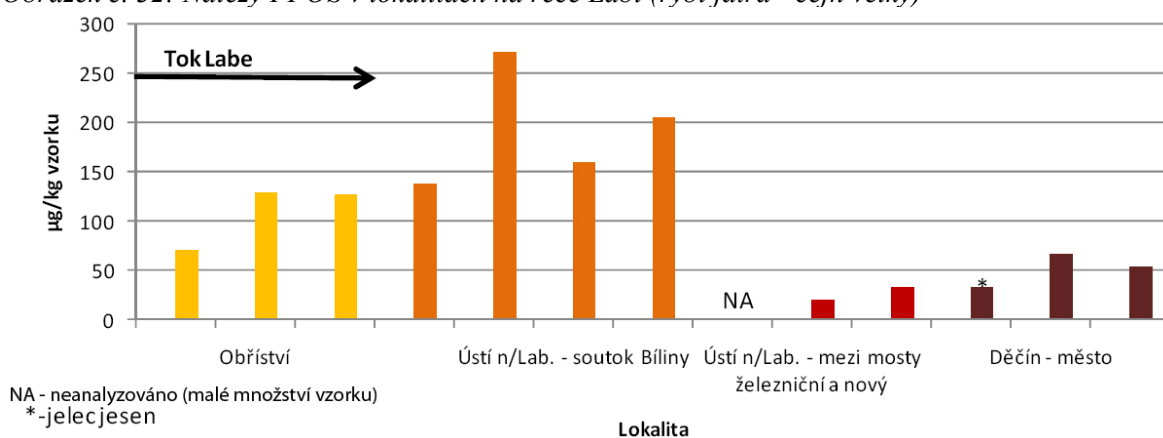
Obrázek č. 31: Nálezy PFOS a FOSA v játrech jelce tlouště ve vybraných lokalitách v roce 2006



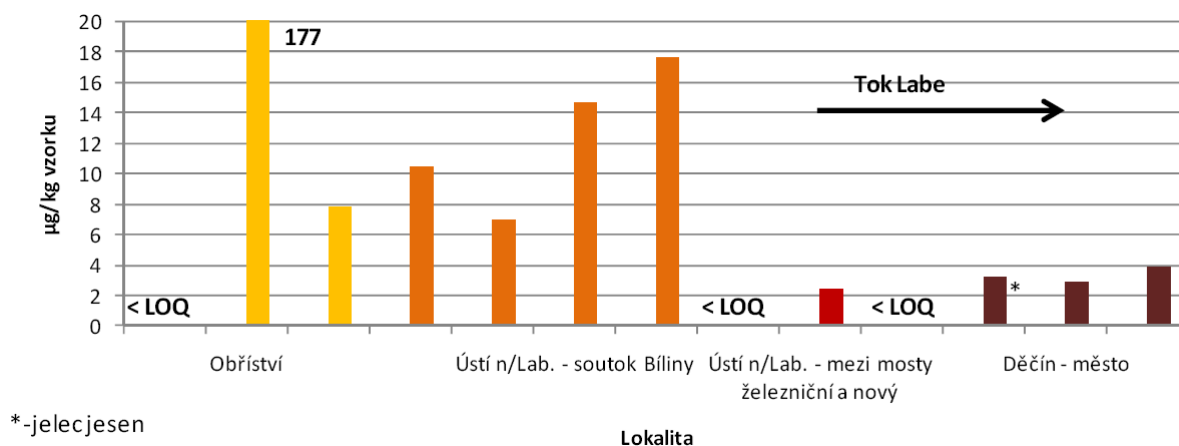
Ve spolupráci se sdružením Arnika proběhla v roce 2009 další studie, ve které byly vyšetřeny vzorky rybích jater cejna velkého a jelce tlouště v několika lokalitách na dolním toku řeky Labe. Jedním z důvodů pro toto vyšetření bylo získání dat o výskytu perfluorovaných látek v životním prostředí ČR před 4. konferencí smluvních stran Stockholmské úmluvy. Na této konferenci byl v květnu 2009 přidán PFOS na listinu POPs.

Hladiny PFOS ve svalovině a játrech jsou zobrazeny na obrázcích č. 32 a č. 33. Nálezy se pohybovaly od 1,5 do 177,4 $\mu\text{g/kg}$ ve svalovině a 20,3 do 270,9 $\mu\text{g/kg}$ v játrech. S výjimkou jednoho vzorku z lokality Obříství lze říci, že koncentrace ve svalovině byly přibližně 10x nižší než v játrech. Dále je vidět, že ze čtyř vyšetřovaných lokalit byly v případě obou matric nejvíce kontaminovány Obříství a Ústí n. Labem na soutoku Labe a Bíliny. Hladiny PFOS byly v ostatních vzorkovaných místech přibližně o řád nižší. Data z obou studií zmíněných výše potvrzují, že mezi nejvíce kontaminované místa v ČR patří dolní tok řeky Bíliny. Vzhledem k tomu, že se perfluorované sloučeniny v ČR nevyráběly a ani nevyrábějí, nelze zatím přesně určit místo původu / úniku těchto kontaminantů. Zjištěné hladiny PFOS v játrech ryb v ČR odpovídají v Evropě publikovaným údajům o nálezech PFOS v játrech sladkovodních druhů ryb, které se pohybují od 5 do 551 $\mu\text{g/kg}$ matrice. To platí pro obě výše zmíněné studie.

Obrázek č. 32: Nálezy PFOS v lokalitách na řece Labi (rybí játra - cejn velký)



Obrázek č. 33: Nálezy PFOS v lokalitách na řece Labi (rybí svalovina - cejn velký)



Monitoring vodního ekosystému v následujících letech bude v ČR pokračovat. Kromě vyšetřování jater vybraných druhů ryb, kterými jsou jelec tloušť, parma obecná, cejn velký a okoun říční, bude studie rozšířena i o další environmentální matrice jako je svalovina ryb, říční sediment, říční a odpadní voda apod.

Příloha č.2

Tabulka č. 21: Přehled údajů z vybraných studií zaměřených na hladiny PFOS v různých živočišných vzorcích [10, 12, 17, 34, 35, 36]

Studie	Uvedené koncentrace (maximální a střední hodnota), n – počet vyšetřovaných vzorků	Data uvedena pro lokalitu
Celosvětový výzkum mořských savců (Florida, Kalifornie, Aljaška, severní Baltské moře, Středozemní moře, Arktida, Kanada)	Delfin, játra (n= 26) Max.: 1520 ng/g Střední: 420 ng/g	Florida
	Tuleň, játra (n= 81) Max.: 1100 ng/g Střední: 240 ng/g	Severní Baltské moře
Výzkum savců, ptáků a ryb v oblasti Kanadské Arktidy	Polární medvěd, játra (n= 7) Max.: > 4000 ng/g Střední: 3100 ng/g	Kanadská Arktida
	Tuleň, játra (n= 81) Max.: 1100 ng/g Střední: 240 ng/g	
Výzkum ryb (USA, Evropa, severní Tichý oceán, Antarktida)	Ryby, svalovina (n= 172) Max.: 923 ng/g Střední: 40 ng/g	Belgie – ústí řek do moře
	Kapr, svalovina (n= 10) Max.: 296 ng/g Střední: 120 ng/g	Velká jezera v USA
Výzkum ptáků žijících se rybami (USA, Baltské moře, Středozemní moře, japonské pobřeží, korejské pobřeží)	Orel bělohavý, plazma (n= 42) Max.: 2570 ng/g Střední: 520 ng/g	Středozápad USA
Výzkum norka a vydry říční (USA)	Norek, játra (n= 77) Max.: 4870 ng/g Střední: 1220 ng/g	USA
	Vydra říční, játra (n= 5) Max.: 994 ng/g Střední: 330 ng/g	
Výzkum ústřic (záliv Chesapeake a Mexický záliv)	Ústřice, celé tělo (n= 77) Max.: 100 ng/g Střední: 60 ng/g	USA
Vzorky ryb nad a pod areálem 3M v Decaturu, Alabama, USA	Ryba, celé tělo (n neuvedeno) Střední (nad): 59,1 µg/g Střední (pod): 1332 µg/g	Decatur, USA
Městské a pozadřové vzorky ryb, Švédsko	Okoun (n neuvedeno) 3 – 5 ng/g (městská oblast v blízkosti čističky odpadních vod) 20 – 44 ng/g (jezero Mälaren a dále v blízkosti Stockholmu)	Jezero Mälaren, Švédsko

Příloha č.3

Tabulka č. 22: Přehled vybraných metod pro stanovení PFAS v pevných vzorcích [48]

Sloučeniny*		Ostatní	Matrice	Množství vzorku	Vnitřní standard	Předúprava vzorku	Metoda extrakce	Přečištění	Stanovení	LOD/LOQ
PFSA	PFCA									
8	8	-	prach	500 mg	-	odstranění hrubých nečistot	SLE (MeOH), sonikace	centrifugace, filtrace	LC/(-)ESI-MS/MS	10-50 ng/g (LOQ)
8	8	-	čistírenský kal	2 g	-	lyofilizace	Soxhletova extrakce, PLE	-	LC/(-)ESI-MS/MS, GC/ECD	6 000-10 000 ng/g (LOD)
-	-	N-EtFOSA, N-MeFOSE, N-EtFOSE, N-MeFOSEA	prach	0,25 g	mirex	prosévání	Soxhletova extrakce (DCM)	-	GC/EI-MS, GC/NCI-MS	1,2-6,1 pg/ (LOD)
4,6,8	8	PFOSA	prach	500 mg	¹³ C ₂ -6:2 FTUCA	prosévání	SLE (ACN), sonikace	centrifugace, SPE (C ₁₈)	LC/(-)ESI-MS/MS	0,99-4,56 ng/g (MDL)
-	6-12,14	PFOSA, N-MeFOSA, N-EtFOSA	půda, sediment, kal	5 g	¹³ C ₂ -PFOA	přídavek NaOH	SLE (MeOH), třepání	EnviCarb, ledová kys. octová	LC/(-)ESI-MS/MS	1 ng/g (LOQ)
-	7,8,10	-	přístavní sediment	3 g	PFD ₂ A	lyofilizace, homogenizace, prosévání	PLE (acetone:MeOH), headspace SPME	-	GC/NCI-MS	0,5-0,6 ng/g (LOD)
	8-12, 14,16,18	PFOSA, 8:2 FTCA, 8:2 FTUCA	kal z ČOV	100 mg	PFBS, ¹³ C ₂ -PFOA	sušení vzduchem, přídavek kyseliny octové	SLE (MeOH/kys.octová), sonikace	SPE (OASIS HLB)	LC/(-)ESI-MS/MS	10-25 ng/g (LOQ)
-	6-10	-	půda	5 g	¹³ C ₄ -PFOA, ¹³ C ₅ -PFNA, ¹³ C ₂ -PFDA	vakuové sušení, přídavek vody a NaOH	SLE (ACN:voda), sonikace	centrifugace, IPE (MTBE)	LC/(-)ESI-MS/MS	0,6 ng/g (LOQ PFOA)

*Čísla ve sloupcích pro PFSA a PFCA představují počet atomů uhlíku daných analytů

Tabulka č. 23: Přehled vybraných metod pro stanovení PFAS ve vodných vzorcích [48]

Sloučeniny*		Ostatní	Matrice	Množství vzorku	Vnitřní standard	Předúprava vzorku	Metoda extrakce	Přečištění	Stanovení	LOD/LOQ
PFSA	PFCA									
-	6-8,12	-	kontaminovaná podzemní voda	55-200 ml	2-chlorlepidin	-	SPE (SAX)	-	GC/EI-MS	36 000 ng/l (LOQ PFOA)
8	8	-	říční voda	40 ml	-	-	SPE (C ₁₈)	promytí kolony	LC/(-)ESI-MS/MS	10-50 ng/l (MQL)
-	4,6,7, 8,10	-	odtok z ČOV, mořská voda	5 ml	PFD ₂ O	přídavek TBA	SPME	-	GC/NCI-MS	50-2 500 ng/l (LOQ)
8	8	N-EtFOSA, N-EtFOSE, PFOSA, PFOS	povrchová voda	50 ml	-	filtrace	SPE (C ₁₈)	-	LC/(-)ESI-MS	0,12-13 ng/l (LOQ)
4,6,8	8,9	PFOSA	mořská voda	500-1000 ml	6:2 FTS	přídavek Na ₂ S ₂ O ₃	SPE (OASIS HLB)	promytí kolony, filtrace	LC/(-)ESI-MS/MS	0,0004-0,0052 ng/l (LOD)
8	6-11	-	povrchová voda	4000-8000 ml	-	filtrace	SPE (C ₁₈)	silikagelová kolona	LC/(-)ESI-MS	0,28-0,58 ng/l (LOQ)
4,6,8,10	6-10	PFOSA, 6.2 FTS	přítok a odtok z ČOV	1,8 ml	PFEES, ¹³ C ₂ -PFOA	centrifugace	-	-	LC/(-)ESI-MS/MS	0,5 ng/l (LOQ)
8	4,7-10	-	odpadní voda, říční voda	500 ml	-	filtrace	SPE (na bázi aluminy)	-	LC/(-)ESI-MS/MS	0,05-0,28 ng/l (MDL)
8	8	-	říční voda	1 ml	PFHpA	filtrace	SPE (C ₁₈)	-	LC/(-)ESI-MS	0,5-1 ng/l (LOD)
4,6,8	6-10	PFOSA	mořská voda	10 000-30 000 ml	¹³ C ₂ -PFOA, ¹³ C ₄ -PFOS, ² H-pesticidy	-	SPE (HR-P)	promytí kolony	LC/(-)ESI-MS/MS	0,002-0,041 ng/l (LOQ)

Tabulka č. 24: Přehled vybraných metod pro stanovení PFAS ve vzduchu [48]

Sloučeniny	Ostatní	Matrice	Množství vzorku	Vnitřní standard	Vzorkovací zařízení	Obohacení	Eluce a přečištění	Stanovení	LOD/LOQ
PFSA, PFCA									
-	4:2, 6:2, 8:2, 10:2 FTOH, N-EtFOSA, N-MeFOSE, N-EtFOSE	venkovní vzduch	600-850 m ³	7:1 FA	vysokoobjemový vzorkovač	GFF, PUF/XAD/PUF	MeOH, EtOAc, filtrace	GC/PCI-MS, GC/NCI-MS	0,15-6,2 pg/m ³ (LOD)
PFOS	-	vzdušný aerosol	1 400 m ³	-	vysokoobjemový vzorkovač	QMF	PLE (10% MeOH), SPE (Presep-C), filtrace	LC/(-)ESI-MS	0,1 ng/ml (LOQ)
-	N-EtFOSA, N-MeFOSE, N-MeFOSE, N-MeFOSEA	venkovní a vnitřní vzduch	bez informace	mirex	pasivní vzorkovače, nízkoobjemový vzorkovač	PUF	Soxhletova extrakce (petrolejový éter, aceton), filtrace	GC/EI-MS, GC/NCI-MS	0,01-7,1 pg/m ³ (MDL)
PFOS, PFOA	N-EtFOSA, N-EtFOSE, PFOSA, PFOS	venkovní vzduch	95-378 m ³	-	vysokoobjemový vzorkovač	GFF, XAD	aceton:hexan, přečištění na florisilu	LC/(-)ESI-MS	bez informace
PFOA	-	kontaminovaný venkovní vzduch	45 m ³	PFDA	vysokoobjemový kaskádový impaktor	celulózový filtr	přídavek vody, centrifugace, SPE (C ₁₈), promytí kolony	LC/(-)ESI-MS	70 000 pg/m ³ (MDL)
PFOS, PFOA	-	vzdušný aerosol	1080 m ³	¹³ C ₂ -PFOA	kaskádový impaktor	QMF (membránový filtr)	PLE (10% MeOH), SPE (Presep-C), filtrace	LC/(-)ESI-MS	0,1 pg/m ³ (LOQ)
-	4:2, 6:2, 8:2, 10:2 FTOH, N-MeFOSA, N-EtFOSA, N-MeFOSE, N-EtFOSE	vnitřní vzduch	20-100 m ³	7:1 FTA	nízkoobjemový vzorkovač	SPE (ENV+)	EtOAc	GC/PCI-MS, GC/NCI-MS	3-300 pg/m ³ (MDL)
		venkovní vzduch	113-308 m ³	6:2, 8:2, 10:2 FTOH (M+4),	nízkoobjemový vzorkovač	SPE (ENV+)			0,3-2,1 pg/m ³ (MDL)
			1340-1780 m ³	² H ₃ -NMeFOSA, ² H ₅ -NEtFOSA	vysokoobjemový vzorkovač	GFF, PUF/XAD/PUF			0,3-2,5 pg/m ³ (MQL)